

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
UNIVERSITÉ D'AVIGNON ET PAYS DE VAUCLUSE

MARIA HELENE GIOVANETTI CANTERI

CARACTERIZAÇÃO COMPARATIVA ENTRE PECTINAS EXTRAÍDAS DO
PERICARPO DE MARACUJÁ-AMARELO (*Passiflora edulis f. flavicarpa*)

CURITIBA
2010

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
UNIVERSITÉ D'AVIGNON ET PAYS DE VAUCLUSE

MARIA HELENE GIOVANETTI CANTERI

CARACTERIZAÇÃO COMPARATIVA ENTRE PECTINAS EXTRAÍDAS DO
PERICARPO DE MARACUJÁ-AMARELO (*Passiflora edulis f. flavicarpa*)

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos, Setor de Tecnologia de Alimentos, da Universidade Federal do Paraná e à Ecole Doctoral Sciences des Procédés, Science des Aliments de l'Université d'Avignon et Pays de Vaucluse como requisito à obtenção do título de Doutor em Tecnologia de Alimentos e Docteur en Science des Procédés, Sciences des Aliments.

Orientadora: Dr.^a Agnes de Paula Scheer

Co-orientadora: Dr.^a Catherine G. M. C. Renard

Relatores: Dr. Gilvan Wosiacki
Dr. Manuel António Coimbra

CURITIBA

2010

MARIA HELENE GIOVANETTI CANTERI


**CARACTERIZAÇÃO COMPARATIVA ENTRE PECTINAS
EXTRAÍDAS DO PERICARPO DE MARACUJÁ-AMARELO
(*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*)**

Tese aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de
Doutor no Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de
Alimentos, da Universidade Federal do Paraná, pela Comissão
formada pelos professores:


Orientadora: Prof^a. Dr^a. AGNES DE PAULA SCHEER
Setor de Tecnologia, UFPR


Co-Orientadora: Prof^a. Dr^a. CATHERINE MARIE-GENEVIVE CLAIRE RENARD
CONVÊNIO DE COOPERAÇÃO UFPR-UNIVERSITÉ D'AVIGNON T DES PAYS DE VAUCLUSE


Prof^a. Dr^a. ANA CLÁUDIA BARANA
Setor de Ciências Agrárias e de Tecnologia, UEPG


Prof^a. Dr^a. CARMEN LÚCIA DE OLIVEIRA PETKOWICZ
Setor de Ciências Biológicas, UFPR


Prof^a. Dr^a. ROSEMARY HOFFMANN RIBANI
Setor de Tecnologia, UFPR

Curitiba, 23 de fevereiro de 2010.

DEDICO

*A Quem me enviou
Aos que permitiram que eu viesse, meus pais: Mário e Rose;
Ao meu irmão e minhas “irmãs”: Izabel, Marcelo e Suzana;
Aos que vieram através de mim: Sandro Júnior, Anna e Lorenzo.
Aos que ainda virão.*

AGRADECIMENTOS

Ao Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos da **Universidade Federal do Paraná**; à Ecole Doctoral Science des Procédés, Science des Aliments da **Université d'Avignon et Pays de Vaucluse**; ao Grupo de Trabalho sobre a Maçã e Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos da **Universidade Estadual de Ponta Grossa**; à UMR-408 do **Institute National de Recherche Agronomique-Avignon**; à **Universidade Tecnológica Federal do Paraná-Campus de Ponta Grossa**, por disponibilizarem recursos físicos, humanos e financeiros para a realização deste trabalho e à **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)** pela bolsa no Programa de Doutorado no País com Estágio no Exterior - PDDE.

Ao meu mentor e orientador, **Gilvan Wosiacki**, pelos quase dez anos de convivência, desde que me acolheu, insegura e tímida jovem, na primavera do ano 2000, e despertou em mim a paixão pela pectina, para me lapidar numa curiosa e ousada criança, ainda não segura o suficiente, mas *en garde toujours*.

Às minhas orientadoras, **Agnes Scheer** e **Catherine Renard**, pela confiança e paciência em me orientar e por gentilmente terem aberto as portas de seus espaços de trabalho.

Aos colegas, pela contribuição de valiosas sugestões e pelos auxílios: **Alessandro Nogueira** (UEPG); **Ana Cláudia Barana** (UEPG); **Beda Yapo** (UFR-Costa do Marfim); **Carmen Petkowicz** (UFPR); **Eliana Belesky Borba Carneiro** (UEPG); **Ivo Demiate** (UEPG), **Luciana Ellendersen** (UEPG); **Renato Giovanetti** (UEPG), **Rosemary Ribani** (UFPR) e **Rosilene Prestes** (UEPG).

Aos colegas da UTFPR-Ponta Grossa: **Denise Almeida**, modelo de determinação; **Eloísa Matos**, *promenades* na França e confidências mil; **Eliana Bortolozo**, incentivadora sempre; **Ewerson Henke**, dividindo aulas; **Giovana Pietrowicz**, escuta em muitos momentos; **José Mauro Giroto**, prosas de incentivo; **José Luiz Trindade**, meias palavras; **Maria Carolina Ribeiro**, auxílio na liofilização; **Marli Santos**, exemplo de coragem/dedicação e **Nádia Kowaleski**, "lavagem cerebral francesa" e ajuda desprendida nas traduções.

A **todos** os meus colegas da UMR 408-INRA, especialmente, na orientação e execução das análises: **Carine LeBourvellec**, organização do laboratório; **Christian Ginies**, *le magicien* iluminado; **Marise Reich**, sempre paciente, companheira de yoga, e nos laboratórios e ambientes: **Aurélien Cendres**, conselhos, risadas, chocolate, caronas e futebol; **David Page**, músicas e doces; **Jean-François Maingonnat**, ouvido tolerante no caminho de volta; **Julien Brillard**, natação ao meio-dia; **Marie-Jose Vallier**, *ma famille* em Avignon, hospitaleiro refúgio nas festas tradicionais e **Ying He**, passeios, compras, piscina e projetos.

Às técnicas e auxiliares amigas de laboratório: **Dannianni Zardo; Denise Mendes, Rita Nabosny e Rosilda Ferreira**; promessa de novamente uma página inteira de agradecimentos, que fica para o Pós-Doutorado, ainda. Escusas, por isso.

Aos muitos companheiros de caminhada no laboratório, colegas, discentes, amigos(as): **Acácio Zielinski, Cristina "Crislaine" Moraes, Francieli Souza, Giovanni Zanolorenzi, Henrique Jaster, Kelly Patrícia, Lirian Moreno, Leila Falcão, Luciana Gabriel, Mariana Marcolini, Marcelo Gomes** (o pioneiro da pectina da casca do maracujá), **Patrícia Camargo, Patrícia Peres, Soriane Camargo e Suelen Ávila**.

Aos colegas da Pós Graduação em Tecnologia de Alimentos, pela breve convivência e ao **Paulo Krainski**, pelos saudáveis puxões de orelha em muitos momentos.

A **Hans-Ulrich Endress**, da empresa Herbstreith & Fox (Alemanha), pelos resultados de análises gentilmente realizadas em amostras de pectina e envio de amostras padronizadas.

Aos meus amados pais **Mário e "Rose"**, pelo apoio, compreensão e paciência infinita em todos os momentos; em especial ao **Professor Mário Urbano Canteri** pela revisão cuidadosa do manuscrito; aos meus filhos **Sandro Júnior "Bu", Anna "Nana" Helene e Lorenzo "Lo"**, por suportarem a minha ausência, aguentarem os meus chiques, aceitarem as minhas escolhas e ainda assim desejarem estar perto de mim; e também às "mães" dos meus filhos e "filhas" de minha mãe: **Bady, Cândida, Izabel, Sandro e Suzana "Xóia"**, por assumirem meu papel quando eu estive longe.

Aos amigos de mesmo objetivo, especialmente **Ariel, Ângela Beatriz, Bia Prestes, Henrique, Juliana, Luciane, Maria Andréia, Paulo Henrique e Regeane**, pelo que é além das palavras.

Aos amigos especiais do outro lado do Atlântico: família Mahfoud (**Belkacem, Abdelkarim e "Primo"**) pelo cantinho no *magazin*; **Mostafa**, lições de francês, árabe, literatura e *blagues*; **Kamran**, pelo respeito, admiração, almoços e Dua's; **Kurt**, chocolate e *"coeur, âme et corps"* em momentos de turbulência; **Sadeed e Zohra**, apoio virtual e especialmente ao *copain Abdelhamid, habib, lumière, espoir et modulation*, quando me sentia completamente abandonada.

A **todos** os que contribuíram para a realização deste trabalho, na "torcida contra ou a favor", não citados e/ou por vezes não lembrados, nunca menos importantes.

Em nome de Deus misericordioso e misericordiadador

*“E o que significa trabalhar com amor?
É tecer um manto com um fio retirado
de vosso coração,
como se vosso bem-amado
precisasse vestir esse manto.
É construir uma casa com afeição, como
se vosso bem-amado devesse residir
nessa lar.
É semear o grão com carinho,
e colher a safra na alegria,
como se vosso bem-amado devesse
alimentar-se desse fruto.
É insuflar em todas as coisas que
vós fabricais a essência de vosso espírito...
O trabalho é o amor feito visível.”*

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

*« Et que veut dire travailler avec amour?
C'est tisser une étoffe avec un fil tiré de
votre cœur,
comme si votre bien-aimé
devait porter cette étoffe.
C'est bâtir une maison avec affection, comme
si votre bien-aimé devait résider
dans cette maison.
C'est semer le grain avec tendresse,
et récolter la moisson dans la joie,
comme si votre bien-aimé devait
en manger le fruit.
C'est insuffler dans toutes les choses que vous
fabriquez l'essence de votre esprit...
Le travail est l'amour rendu visible.»*

Sibran Khalil Gibran bin Mikhaïl bin Sa'ad

RESUMO

As substâncias pécticas, polissacarídeos do grupo das fibras dietéticas, são amplamente utilizadas como agentes geleificantes e estabilizantes na indústria de alimentos. O principal processo industrial para obtenção de pectina está baseado na solubilização da protopectina, realizada em condições fracamente ácida a quente. Estudos recentes têm reportado a extração de pectina de novas matérias-primas sob diferentes condições, com influência sobre a qualidade e sobre o rendimento do produto final. O Brasil é o maior produtor e consumidor mundial de maracujá e os resíduos do processamento da indústria de suco são ainda subaproveitados. As cascas, que compreendem a maior parte do resíduo, poderiam ser usadas como matéria-prima alternativa para extração de pectina. A quantidade de subproduto por ano poderia alcançar 300 mil toneladas, com potencial de produzir 2 mil toneladas de pectina. O principal objetivo deste trabalho foi produzir pectina de alto padrão de qualidade e estabelecer um protocolo próprio de extração. Um planejamento central composto de 2^3 foi usado para determinar o efeito de variáveis independentes, contínuas e atuantes na extração de pectina de albedo de maracujá sobre variáveis dependentes a fim de maximizar a qualidade reológica da pectina. As variáveis independentes foram tempo (5-45 min), temperatura (63-97 °C) e concentração de ácido nítrico (8-92 mM). As condições de extração para comparar as características e comportamento reológico da pectina foram 20 ou 25 minutos, 80 °C e 50 mM de ácido nítrico, razão soluto/solvente 1:50 p/v. A pectina do pericarpo de maracujá, tanto comercial quanto preparado em bancada, como da casca cítrica e do bagaço de maçã, foram extraídas sob iguais condições para análises comparativas. A composição das frações relativas da casca de maracujá-amarelo foi determinada, bem como da pectina extraída, e o componente mais abundante do pericarpo foi fibra dietética total. Os resultados mostraram que o maior conteúdo de pectina foi encontrado na fração mesocarpo, com alta viscosidade e com baixa retenção de compostos fenólicos. Os resultados obtidos indicam uma evidente influência da matéria prima sobre a pectina resultante e suas propriedades reológicas. As características moleculares da pectina de maracujá foram afetadas negativamente quando as farinhas das cascas de maracujá haviam sido submetidas a altas temperaturas. Atividade da pectina metil esterase foi detectada em matéria-prima liofilizada quando não houve tratamento térmico. A pectina do bagaço de maçã teve o menor rendimento de extração, entretanto o mais alto grau de esterificação, viscosidade e massa molar. A pectina do maracujá mostrou composição similar à pectina da maçã, confirmada por análise multivariada que permitiu a discriminação em grupos utilizando os teores de açúcares neutros. O rendimento da extração e a viscosidade aparente foram significativamente influenciados nos ensaios. As condições ideais para extração de pectina com a mais alta viscosidade aparente e elevada massa molar foram tempo curto (5 min), temperatura média (80 °C) e concentração média de ácido nítrico (50 mM). Nessas condições o rendimento foi de 196 g kg^{-1} de uma pectina com alta metoxilação, massa molar de $166.000 \text{ g mol}^{-1}$, 78% de ácido galacturônico e 43 mg g^{-1} de açúcares neutros. As cascas de maracujá-amarelo podem ser utilizadas como matéria-prima alternativa para extração de pectina de alta qualidade e uso como ingrediente funcional natural.

Palavras-chave: casca de maracujá, pectina, qualidade, metodologia de superfície de resposta

ABSTRACT

Pectic substances, polysaccharides from group of dietary fiber, are widely as a gelling agent and stabilizer in the food industry. The main industrial processing to obtain pectin is based on the solubilization of protopectin from apple pomace and citrus peel, which is done in mild acid and heat conditions. Recent studies have reported the extraction of pectin from new raw materials and using different extraction conditions, which influence the yield and quality of final product. Brazil is the world's main producer and consumer of yellow passion fruit and the wastes from the passion fruit juice processing industry are still sub valued. The rinds, which comprise much of this waste, could be used as an alternative raw material for extracting pectin. The amount of this by-product per year could reach 300,000 metric tons, with the potential to produce 2,000 metric tons of pectin. The main goal of this trial was to produce high standard quality pectin from yellow passion fruit and the establishment of an extraction proper protocol. The characterization of waste generated by fruit processing industry is the key to increase the value of its products. The central composite experimental design of 2^3 was used to verify the influence of different extraction conditions on pectin extracted. The independent variables were time (5-45 min), temperature (63-97 °C) and HNO_3 concentration (8-92 mM). The conditions of extraction to compare characteristics and rheological behavior of pectin were 20 minutes, 80 °C and 50 mM nitric acid, ratio solute/solvent 1:50 w/v. The pectins of both commercially available and prepared passion fruit peel, as well as citrus peel and apple pomace were extracted in the same conditions to comparative analyses. It was done the relative fractions compositions of the yellow passion fruit's rind and extracted pectin and the most abundant component of pericarp was total dietary fiber. The results showed that the highest content of pectin with higher viscosity occurred in the mesocarp fraction, which also showed the lowest phenolic compound retention. They suggest that there is a clear influence of the raw material quality on resultant pectin and rheological properties. The macromolecular characteristics were negatively affected when the rind flours were submitted to high temperatures. Pectin methyl esterase activity was detected in the freeze-dried, unblanched raw material. The apple pomace pectin had lowest extraction yield however highest degree of esterification, viscosity and molar weight. The passion fruit rind pectin showed similar composition to apple pectin, confirmed by multivariate analysis that allowed the discrimination of pectins in groups using neutral sugars amount. The extraction yield and the apparent and reduced viscosity were significantly influenced (>5%) in the trials. The ideal conditions for extracting pectin with the highest apparent viscosity and with polysaccharide profile of high molar mass were obtained with short time (5 min), medium temperature (80 °C) and medium HNO_3 concentration (50 mM). In these conditions, the yield was 196 g kg^{-1} of a pectin with high methoxylation, a molar weight of $166.000 \text{ g mol}^{-1}$, 78% GalA and 43 mg g^{-1} of neutral sugars. Yellow passion fruit rinds, an industrial waste from the juice processing, can constitute an alternative raw material for the extraction of high quality pectin and use as functional natural ingredient.

Key-words: passion fruit rinds, pectin, quality, response surface methodology.

RESUME ETENDU

Les substances pectiques, polysaccharides du groupe des fibres alimentaires, sont largement utilisées comme agents gélifiants et stabilisants dans l'industrie alimentaire. Le principal procédé industriel pour l'obtention de la pectine est basé sur la solubilisation de la protopectine du marc du pomme ou du péricarpe d'agrumes, réalisée dans des conditions faiblement acide à chaud. Des travaux récents ont montré l'extraction de pectine de nouvelles matières premières et en utilisant différentes conditions, qui influencent le rendement et la qualité du produit final.

Le Brésil est le plus grand producteur et consommateur mondial de fruit de la passion et les résidus de l'industrie du jus sont encore sous-utilisées. Ces écorces pourraient être une matière première alternative pour l'extraction de pectine. La quantité de ce sous-produit par année pourrait atteindre 300 mille tonnes, avec un potentiel de production de 2 mille tonnes de pectine. Le principal objectif de ce travail était d'établir un protocole d'extraction permettant de produire des pectines de qualité à partir d'écorce de fruit de la passion jaune. La caractérisation du résidu produit par les industries est la clé pour augmenter la valeur de ces produits. Ainsi, la composition des différentes fractions tissulaires de l'écorce de fruit de la passion jaune a été mesurée, ainsi que celle de la pectine extraite. Les fibres alimentaires sont le principal composant du péricarpe de fruit de la passion jaune, avec des valeurs proches de 60%, sauf pour la fraction endocarpe, la plus riche en protéines de toutes les fractions analysées. En ce qui concerne la qualité de la pectine extraite, c'est le mésocarpe qui donne les rendements les plus élevés (136 g Kg^{-1}) avec une viscosité plus forte et une teneur en composés phénoliques totaux résiduels la plus faible (15%). La composition moyenne de cette fraction était de 3,1% de protéines; 0,6% de matières grasses; 7,1% de cendres; 66,1% de fibres alimentaires totales; 127 g Kg^{-1} de composées phénoliques, 23% de carbohydrates disponibles, 6,10% d'humidité et une valeur calorique de 242 Kcal par 100 g de produit. Les principaux composants des polysaccharides y sont le glucose (297 mg g^{-1}), l'acide galacturonique (210 mg g^{-1}), le xylose (32 mg g^{-1}), le mannose (32 mg g^{-1}) et le galactose (28 mg g^{-1}). La pectine extraite à 80°C pendant 20 minutes avec 50 mm d'acide nitrique, pour un rapport liquide:solide de 1:50 (w/v) présente un degré d'estérification de 79% et de méthylation de 82%. Les pectines ont été extraites dans ces mêmes conditions de péricarpe de fruit de la passion commercial ou préparé au laboratoire, d'écorce d'agrumes et de marc du pomme. Les résultats montrent une forte influence de la matière première sur la pectine résultante et ses propriétés rhéologiques. Les caractéristiques moléculaires ont été affectées négativement quand les farines des écorces ont été soumises à de hautes températures. Des farines blanchies des fruits de la passion jaune donnent des rendements de pectine de $203,4 \text{ g kg}^{-1}$ avec une teneur en acide galacturonique de 681 mg g^{-1} , des degrés d'estérification et de méthylation de 80, une viscosité réduite de $6,8 \text{ dL g}^{-1}$ et une viscosité apparente de $13,4 \text{ Pa s } 10^3$ pour une solution aqueuse à 10 g L^{-1} . L'autoclavage et la macération avec éthanol chaud ont conduit à une réduction significative de la masse molaire (environ de trois fois) et une légère réduction du degré d'estérification (proche 20%). Des traitements thermiques sévères de matière première affectent donc la qualité de la pectine extraite. Par contre, l'absence de traitement thermique de la matière première favorise la dégradation de la pectine, par la présence d'activités pectolytiques résiduelles, mises en évidence par une libération de méthanol dans un mésocarpe fraîche lyophilisé remis en suspension

aqueuse. Un blanchiment de la matière première est donc indispensable. Dans les conditions d'extraction définies ci-dessus, la pectine de pomme a présenté le rendement d'extraction le plus faible mais le degré d'estérification le plus élevé, la viscosité et la masse molaire les plus fortes. La pectine extraite de farine de fruit de la passion jaune montre des caractéristiques proches de celles de la pectine de pomme, bien que légèrement plus faibles. Cette similitude est confirmée par une analyse en composantes principales, qui a permis la discrimination entre les pectines analysées, à partir des compositions en oses neutres. La pectine extraite avec de l'eau et à froid à partir de mésocarpe de fruit de la passion jaune a des compositions en oses et un degré d'estérifications semblables à celle extraite en milieu acide à chaud, mais une masse molaire et une viscosité plus faibles.

Ultérieurement, un plan d'expérience centré composite de 2^3 a été utilisée pour déterminer l'effet des variables indépendantes, continues et opérantes que sont la durée, la température et la concentration d'acide dans le processus d'extraction de pectine sur les variables dépendantes: rendement, degré d'estérification, teneurs et composition osidique des polysaccharides, ainsi que leur comportement rhéologique, afin de maximiser la qualité de la pectine. Les variables indépendantes étaient la durée (5-45 min), la température (63-97 °C) et la concentration d'acide nitrique (8-92 mM). Le rendement de l'extraction et la viscosité apparent en solution saline ont été influencés significativement ($> 5\%$) dans les essais. Les conditions idéales pour l'extraction de pectine avec la plus haute viscosité apparente et contenant les polysaccharides présentant un profil de masse molaire élevée ont été une durée courte (5 min), une température moyenne (80 °C) et une concentration moyenne d'acide nitrique (50 mM). Dans ces conditions, le rendement a été de 196 g kg^{-1} d'une pectine hautement méthylée avec une masse molaire apparent de $166.000 \text{ g mol}^{-1}$, 78% d'acide galacturonique et 43 mg g^{-1} de sucres neutres. Néanmoins, cette pectine ne donnait pas un gel plus ferme (70% de saccharose, teneur en pectine 30 g L^{-1} dans un tampon citrate pH 3) que les autres échantillons analysés. Des échantillons des pectines avec des degrés d'estérification proches ont présenté des caractéristiques rhéologiques et des profils moléculaires différents. Les conditions d'extraction plus douces ont permis l'extraction de pectine des chaînes avec masse molaire plus élevée et en conséquence une viscosité plus élevée. Pour une utilisation industrielle du mésocarpe, le processus de séparation devrait inclure des opérations supplémentaires, en augmentant à la fois le coût et la durée du procédé. Cependant, étant donnée la haute valeur économique ajoutée de la pectine extraite, un traitement approprié du résidu pour l'obtention de matière première de qualité paraît primordial. Dans la mesure où il semble que le mésocarpe doive être préféré pour l'obtention d'une pectine avec une pureté et une viscosité élevées, cette fraction a été sélectionnée comme matière première pour suivre les études. Les écorces de fruit de la passion jaune, un résidu industriel du traitement de jus, peuvent constituer une matière première alternative pour extraction de pectine de haute qualité et ou une utilisation comme ingrédient fonctionnel naturel.

Mots-clé: écorce de fruit de la passion passion, pectine, qualité, plan d'expérience.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| FIGURA 1-PERCENTUAL DA PRODUÇÃO DE FRUTAS E LEGUMES NOS DEZ PRINCIPAIS PRODUTORES MUNDIAIS EM 2004..... | 26 |
| FIGURA 2-PRODUÇÃO MUNDIAL DAS FRUTAS EM LIDERANÇA ENTRE OS ANOS DE 2002 E 2007, EM MILHÕES DE TONELADAS..... | 27 |
| FIGURA 3-NOVAS BEBIDAS CLASSIFICADAS DE ACORDO COM TIPOS SELECIONADOS, NO MERCADO GLOBAL, ENTRE MARÇO DE 2008 E MARÇO DE 2009..... | 29 |
| FIGURA 4-ESTRUTURA DO ÁCIDO POLIGALACTURÔNICO..... | 35 |
| FIGURA 5-ELEMENTOS ESTRUTURAIS DAS MOLÉCULAS DE PECTINA | 35 |
| FIGURA 6-MODELO USUAL DE PECTINA COM REGIÕES LISAS E RAMIFICADAS..... | 38 |
| FIGURA 7-POSSÍVEL DISTRIBUIÇÃO DE CADEIAS NUMA MOLÉCULA PÉCTICA..... | 38 |
| FIGURA 8-HIPÓTESE DE ESTRUTURA PARA MOLÉCULA DE PECTINA..... | 39 |
| FIGURA 9-ALTERNATIVA PROPOSTA PARA CADEIA PÉCTICA..... | 39 |
| FIGURA 10-MODELO PROPOSTO PARA CADEIA PÉCTICA..... | 40 |
| FIGURA 11-PRINCIPAIS MODIFICAÇÕES NAS SUBSTÂNCIAS PÉCTICAS POR EFEITO DE TEMPERATURA..... | 41 |
| FIGURA 12-TIPOS DE PAREDE CELULAR PRIMÁRIA..... | 42 |
| FIGURA 13-MODELO DE PLACAS PARALELAS PARA EXPLICAR A VISCOSIDADE DE UM LÍQUIDO POR NEWTON..... | 49 |
| FIGURA 14-MODELOS DE VISCOSÍMETROS..... | 52 |
| FIGURA 15-FRUTOS e FLOR DE MARACUJÁ-AMARELO (<i>Passiflora edulis f. flavicarpa</i>)..... | 58 |
| FIGURA 16-REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO PERICARPO DE MARACUJÁ-AMARELO E FRAÇÕES..... | 59 |
| FIGURA 17-DIAGRAMA PARA PRODUÇÃO DE FARINHAS DO PERICARPO DO MARACUJÁ-AMARELO PARA USO COMO MATÉRIAS-PRIMAS NA EXTRAÇÃO DE PECTINA..... | 67 |
| FIGURA 18-DIAGRAMA GERAL DE EXTRAÇÃO ÁCIDA E PRECIPITAÇÃO | |

| | |
|--|-----|
| ALCOÓLICA DE PECTINAS A PARTIR DE FARINHAS..... | 73 |
| FIGURA 19-AMOSTRA DE FRUTO DO MARACUJÁ-AMARELO UTILIZADO COMO MATÉRIA-PRIMA..... | 77 |
| FIGURA 20-PERICARPO DE MARACUJÁ-AMARELO E FRAÇÕES: [1] MESOCARPO; [2] PERICARPO ou INTEGRAL; [3] EXOCARPO; [4] ENDOCARPO..... | 78 |
| FIGURA 21-PERFIL CROMATOGRÁFICO DE AMOSTRAS DE PECTINA EXTRAÍDA DO PERICARPO DE MARACUJÁ DE BANCADA E INDUSTRIAL COM ÁCIDO NÍTRICO (50mM), 20 MINUTOS A 80 °C..... | 84 |
| FIGURA 22-DIAGRAMA PARA PRODUÇÃO DE DIFERENTES FARINHAS DA CASCA DO PERICARPO DO MARACUJÁ-AMARELO..... | 89 |
| FIGURA 23-LIBERAÇÃO DE METANOL DE FARINHAS DE MARACUJÁ SUBMETIDAS A DIFERENTES TRATAMENTOS TÉRMICOS..... | 94 |
| FIGURA 24-CURVA DE CALIBRAÇÃO PARA CROMATOGRAFIA DE PERMEAÇÃO TSK-GEL GMPW COM PADRÕES DE DEXTRANA E GLUCOSE.... | 96 |
| FIGURA 25-PERFIS DE ELUIÇÃO POR CROMATOGRAFIA DE EXCLUSÃO ESTÉRICA DE ALTA PRESSÃO (HPSEC) DE AMOSTRAS DE PECTINA EXTRAÍDA DE FARINHAS DE CASCA DE MARACUJÁ-AMARELO..... | 97 |
| FIGURA 26-PECTINA EXTRAÍDA DO ALBEDO CÍTRICO, BAGAÇO DE MAÇÃ E MESOCARPO DE MARACUJÁ-AMARELO (DA ESQUERDA PARA A DIREITA).... | 106 |
| FIGURA 27-ESCORES (À ESQUERDA) E PESOS (À DIREITA) PARA DISCRIMINAÇÃO DE PECTINAS E MATÉRIA-PRIMA..... | 110 |
| FIGURA 28-REPRESENTAÇÃO GRÁFICA DOS PONTOS EXPERIMENTAIS DO PLANEJAMENTO COMPOSTO CENTRAL DE TRÊS FATORES..... | 115 |
| FIGURA 29-EFEITOS DOS FATORES TEMPO, TEMPERATURA E CONCENTRAÇÃO DE ÁCIDO SOBRE A VISCOSIDADE APARENTE DA PECTINA DO MESOCARPO DE MARACUJÁ-AMARELO..... | 126 |
| FIGURA 30-SUPERFÍCIE DE RESPOSTA E CURVA DE NÍVEL PARA A VISCOSIDADE APARENTE DA PECTINA EXTRAÍDA DO ALBEDO DE MARACUJÁ-AMARELO EM 25 MINUTOS DE EXTRAÇÃO..... | 127 |
| FIGURA 31-EFEITOS DOS FATORES TEMPO, TEMPERATURA E CONCENTRAÇÃO DE ÁCIDO SOBRE O RENDIMENTO GRAVIMÉTRICO DA PECTINA DO MESOCARPO DE MARACUJÁ-AMARELO..... | 127 |
| FIGURA 32-SUPERFÍCIE DE RESPOSTA E CURVA DE NÍVEL PARA O RENDIMENTO GRAVIMÉTRICO DA PECTINA EXTRAÍDA DO ALBEDO DE MARACUJÁ-AMARELO EM 25 MINUTOS DE EXTRAÇÃO..... | 128 |

| | |
|---|-----|
| FIGURA 33-PERFIS DE CROMATOGRAFIA DE EXCLUSÃO ESTÉRICA DE ALTA PRESSÃO DAS AMOSTRAS DE PECTINAS DE MESOCARPO DE MARACUJÁ-AMARELO OBTIDAS EM METODOLOGIA DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA | 130 |
| FIGURA 34-VISCOSIDADE APARENTE DO GEL 30 g L ⁻¹ DAS AMOSTRAS DE PECTINAS DE MESOCARPO DE MARACUJÁ AMARELO OBTIDAS EM METODOLOGIA DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA..... | 131 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|-----|
| TABELA 1-CONTEÚDO DE PECTINA DE ALGUNS FRUTOS..... | 25 |
| TABELA 2-PRODUÇÃO DE FRUTAS E LEGUMES NOS DEZ PRINCIPAIS PRODUTORES MUNDIAIS ENTRE 1979-2004(EM PERÍODOS INTERMITENTES). | 26 |
| TABELA 3-PRODUÇÃO NACIONAL DE MARACUJÁ EM TONELADAS ENTRE OS ANOS DE 2003 E 2007 SEGUNDO AS REGIÕES DO BRASIL..... | 56 |
| TABELA 4-COMPOSIÇÃO APROXIMADA DA CASCA DE MARACUJÁ..... | 61 |
| TABELA 5-PERCENTUAL DAS FRAÇÕES DE FRUTOS DE MARACUJÁ AMARELO PARANAENSES, SAFRÁ 2006/2007, COMPARADOS AOS DESCRITOS POR OUTROS AUTORES..... | 77 |
| TABELA 6-COMPOSIÇÃO APROXIMADA, COMPOSTOS FENÓLICOS E PECTINA EXTRAÍDA DE PERICARPO DE MARACUJÁ E FRAÇÕES..... | 79 |
| TABELA 7-PRINCIPAIS MONOSSACARÍDEOS DO PERICARPO DE MARACUJÁ-AMARELO (mg g ⁻¹)..... | 81 |
| TABELA 8-PARÂMETROS DE QUALIDADE DA PECTINA DO PERICARPO DE MARACUJÁ-AMARELO E FRAÇÕES (80 °C, 20 MINUTOS E 50 mM DE ÁCIDO NÍTRICO)..... | 82 |
| TABELA 9-PADRÕES UTILIZADOS PARA CROMATOGRAFIA DE PERMEAÇÃO EM GEL E RESPECTIVOS VOLUMES DE ELUIÇÃO NO SISTEMA..... | 92 |
| TABELA 10-COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS, UMIDADE DA MATÉRIA-PRIMA E RENDIMENTO RESPECTIVO DA PECTINA EXTRAÍDA..... | 92 |
| TABELA 11-PARÂMETROS QUALITATIVOS DE PECTINAS DO PERICARPO DE MARACUJÁ AMARELO*..... | 95 |
| TABELA 12-TEORES MÉDIOS DOS PRINCIPAIS AÇÚCARES DE PECTINAS DE MARACUJÁ (mg g ⁻¹)..... | 98 |
| TABELA 13-COMPOSIÇÃO APROXIMADA DE PECTINAS COMERCIAIS TÍPICAS..... | 101 |
| TABELA 14-PARÂMETROS QUALITATIVOS DA PECTINA EXTRAÍDA DOS ALBEDOS DE LARANJA PÊRA E MARACUJÁ-AMARELO E DO BAGAÇO DE MAÇÃ CATARINA..... | 107 |
| TABELA 15-AÇÚCARES DE PECTINAS DO BAGAÇO DE MAÇÃ CATARINA E ALBEDOS DE MARACUJÁ-AMARELO E LARANJA PÊRA (mg g ⁻¹)..... | 108 |
| TABELA 16-VARIÁVEIS E NÍVEIS EMPREGADOS NO PLANEJAMENTO CENTRAL ROTACIONAL COMPOSTO PARA OTIMIZAÇÃO DAS | |

| | |
|---|-----|
| CARACTERÍSTICAS REOLÓGICAS DA PECTINA DO MESOCARPO DO MARACUJÁ-AMARELO..... | 118 |
| TABELA 17-RENDIMENTO DE EXTRAÇÃO E ASPECTO VISUAL DAS AMOSTRAS DE PECTINA DO ALBEDO DE MARACUJÁ AMARELO E RESPECTIVAS VARIÁVEIS INDEPENDENTES DO PLANEJAMENTO CENTRAL ROTACIONAL COMPOSTO APLICADO PARA EXTRAÇÃO..... | 121 |
| TABELA 18-ESTERIFICAÇÃO, REOLOGIA E PERFIL DA MASSA MOLAR DO PLANEJAMENTO CENTRAL ROTACIONAL COMPOSTO APLICADO PARA EXTRAÇÃO PECTINA DO ALBEDO DE MARACUJÁ-AMARELO..... | 122 |
| TABELA 19-COMPOSIÇÃO DOS PRINCIPAIS AÇÚCARES DAS AMOSTRAS DE PECTINA DE ALBEDO DE MARACUJÁ AMARELO (mg.g ⁻¹)..... | 124 |
| TABELA 20-ANÁLISE DE VARIÂNCIA DO MODELO PARA A VISCOSIDADE APARENTE..... | 126 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABRELPE-**A**ssociação **B**rasileira de **E**mpresas de **L**impeza **P**ública e **R**esíduos **E**speciais.

ANVISA-**A**gência **N**acional de **V**igilância **S**anitária.

AOAC- **A**ssociation of **A**nalytical **C**ommunities.

CAPES- **C**oordenação de **A**perfeiçoamento de **P**essoal de **N**ível **S**uperior

CCRD-planejamento central composto rotacional, do inglês **C**entral **C**omposite **R**otational **D**esign.

CONAMA-**C**onselho **N**acional do **M**eiro **A**mbiente.

CNUMAD-**C**onferência das **N**ações **U**nidas sobre **M**eiro **A**mbiente e **D**esenvolvimento **H**umano.

EPAGRI- **E**mpresa de **P**esquisa **A**grícola e de **E**xtensão **R**ural de Santa Catarina.

EU-União Européia, do inglês, **E**uropean **U**nion.

FAO-Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura, do inglês **F**ood and **A**griculture **O**rganization of the **U**nited **N**ations.

HPSEC-cromatografia de exclusão estérica de alta pressão, do inglês **H**igh-**P**erformance **S**ize **E**xclusion **C**hromatography.

HPU- unidades de um pectinômetro fabricado pela indústria de pectina Herbstreith-Fox, do inglês **H**erbstreith-**P**ektinometer-**U**nits.

PCA-análise de componentes principais, do inglês, **P**rincipal **C**omponent **A**nalysis

RSM-metodologia de superfície de resposta, do inglês **R**esponse **S**urface **M**ethodology.

UAPV- Universidade de Avignon e Região de Vaucluse, do francês **U**niversité d'**A**vignon et **P**ays de **V**aucluse

UEPG-**U**niversidade **E**stadual de **P**onta **G**rossa

UFPR-**U**niversidade **F**ederal do **P**araná

UMR- Unidade mista de pesquisa, do francês **U**nité **M**ixte de **R**echerche

UTFPR-**U**niversidade **T**ecnológica **F**ederal do **P**araná

SUMÁRIO

| | |
|---|-----------|
| 1 INTRODUÇÃO..... | 20 |
| 2 OBJETIVOS..... | 23 |
| 2.1 OBJETIVO GERAL..... | 23 |
| 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS..... | 23 |
| 3 PECTINA: DA MATÉRIA-PRIMA AO PRODUTO FINAL..... | 24 |
| 3.1 DEFINIÇÃO E CARACTERÍSTICAS DE FRUTOS..... | 24 |
| 3.2 DA PRODUÇÃO AGRÍCOLA À INDUSTRIALIZAÇÃO..... | 25 |
| 3.3 GESTÃO DE RESÍDUOS DO PROCESSAMENTO DE FRUTAS..... | 30 |
| 3.4 SUBSTÂNCIAS PÉCTICAS..... | 31 |
| 3.4.1 Histórico..... | 32 |
| 3.4.2 Aplicações..... | 33 |
| 3.4.3 Estrutura molecular..... | 35 |
| 3.4.4 Degradação da estrutura..... | 40 |
| 3.4.5 Localização das substâncias pécticas | 42 |
| 3.4.6 Produção industrial de pectina..... | 43 |
| 3.5 AVALIAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS PÉCTICAS | 46 |
| 3.5.1 Perfil monossacarídico..... | 47 |
| 3.5.2 Conteúdo em metoxilas e esterificação..... | 48 |
| 3.5.3 Propriedades reológicas..... | 49 |
| 3.5.4 Massa molar..... | 54 |
| 4. PERICARPO DO MARACUJÁ-AMARELO: MATÉRIA-PRIMA PARA PRODUÇÃO DE PECTINA..... | 56 |
| 4.1 MARACUJÁ-AMARELO..... | 56 |
| 4.1.1 Panorama do mercado da fruta..... | 56 |
| 4.1.2 Características da matéria-prima..... | 58 |
| 4.1.3 Características do suco e dos resíduos..... | 60 |
| 4.1.4 Alternativas para utilização dos resíduos do maracujá-amarelo..... | 63 |
| 4.1.5 Pectina de resíduos do processamento do maracujá-amarelo..... | 64 |
| 4.2 OBJETIVO..... | 66 |
| 4.3 MATERIAL E MÉTODOS | 66 |
| 4.3.1 Obtenção das farinhas de pericarpo..... | 66 |
| 4.3.2 Análises físico-químicas das farinhas..... | 68 |
| 4.3.3 Hidrólise dos polissacarídeos..... | 69 |
| 4.3.4 Teor de ácido urônico..... | 70 |
| 4.3.5 Teor de monossacarídeos neutros por cromatografia a gás..... | 70 |
| 4.3.6 Teor de metanol por GC-MS..... | 71 |
| 4.3.7 Grau de metilação (DM)..... | 72 |
| 4.3.8 Metodologia para obtenção de pectinas em bancada..... | 72 |
| 4.3.9 Rendimento gravimétrico da pectina extraída..... | 74 |
| 4.3.10 Grau de esterificação (DE)..... | 74 |
| 4.3.11 Viscosidade reduzida..... | 75 |
| 4.3.12 Perfil de massa molar por HPSEC-MAALS..... | 76 |
| 4.3.13 Análises estatísticas..... | 76 |
| 4.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 76 |
| 4.4.1 Caracterização das frações da matéria-prima..... | 76 |
| 4.4.2 Análises das pectinas obtidas do pericarpo e frações..... | 82 |
| 4.5 CONCLUSÃO..... | 84 |
| 5 COMPARAÇÃO ENTRE AMOSTRAS DE PECTINA EXTRAÍDAS DE FARINHAS DE CASCA DE MARACUJÁ COMERCIAIS E DE BANCADA..... | 87 |

| | |
|---|------------|
| 5.1 IMPORTÂNCIA DA QUALIDADE DA MATÉRIA-PRIMA NA EXTRAÇÃO..... | 87 |
| 5.2. OBJETIVO..... | 88 |
| 5.3 MATERIAL E MÉTODOS: COMPARAÇÃO ENTRE AMOSTRAS DE PECTINA DE CASCA DE MARACUJÁ..... | 88 |
| 5.3.1 Matéria-prima: farinhas de bancada e comerciais..... | 88 |
| 5.3.2 Extração de pectina..... | 90 |
| 5.3.3 Análises nas farinhas de pericarpo de maracujá-amarelo..... | 90 |
| 5.3.4 Análises da pectina extraída de farinhas de pericarpo de maracujá-amarelo..... | 90 |
| 5.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 92 |
| 5.5 CONCLUSÃO..... | 99 |
| 6. EXTRAÇÃO COMPARATIVA DE PECTINAS: ALBEDO DE MARACUJÁ X ALBEDO CÍTRICO E BAGAÇO DE MAÇÃ..... | 101 |
| 6.1 FONTES USUAIS DE EXTRAÇÃO: ALBEDO CÍTRICO E BAGAÇO DE MAÇÃ... | 101 |
| 6.2 PECTINAS DE MATÉRIAS-PRIMAS ALTERNATIVAS..... | 101 |
| 6.3 TRATAMENTO DOS DADOS POR ANÁLISE MULTIVARIADA..... | 102 |
| 6.4 OBJETIVO..... | 103 |
| 6.5 MATERIAL E MÉTODOS..... | 103 |
| 6.5.1. Obtenção de farinhas matéria-prima..... | 103 |
| 6.5.2. Condições de extração de pectina..... | 104 |
| 6.5.3 Caracterização da pectina..... | 104 |
| 6.5.4 Análise multivariada..... | 105 |
| 6.6 RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 106 |
| 6.6.1 Composição comparativa entre as pectinas..... | 106 |
| 6.6.2 Análise multivariada aplicada às pectinas e matéria-prima..... | 109 |
| 6.7 CONCLUSÃO..... | 111 |
| 7 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL NA OTIMIZAÇÃO DA QUALIDADE..... | 112 |
| 7.1 FATORES DE INFLUÊNCIA SOBRE A EXTRAÇÃO DA PECTINA..... | 112 |
| 7.2 PLANEJAMENTO DE EXPERIMENTOS NA EXTRAÇÃO DE PECTINA..... | 114 |
| 7.3 MATERIAL E MÉTODOS..... | 117 |
| 7.3.1 Matéria-prima..... | 117 |
| 7.3.2 Planejamento experimental para extração..... | 117 |
| 7.3.3 Caracterização da pectina extraída..... | 118 |
| 7.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 120 |
| 7.4.1 Composição geral das amostras de pectina..... | 120 |
| 7.4.2 Análise estatística..... | 125 |
| 7.4.3 Viscosidade e massa molar..... | 129 |
| 7.5 CONCLUSÃO..... | 132 |
| 8. CONSIDERAÇÕES FINAIS..... | 133 |
| 8.1 CONCLUSÃO GERAL | 134 |
| 8.2 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS..... | 135 |
| REFERÊNCIAS | 136 |
| ANEXO 1..... | 152 |
| ANEXO 2..... | 154 |
| ANEXO 3..... | 158 |
| ANEXO 4..... | 160 |
| APÊNDICE 1..... | 161 |

1 INTRODUÇÃO

A diminuição do consumo de água e da geração de poluentes, bem como a completa exploração dos resíduos enquanto matérias primas ou sua reinserção no processo constituem algumas etapas dos ensaios para o fechamento total do ciclo produtivo (reciclagem), já há várias décadas na Europa. No Brasil, a elaboração de relatórios oficiais ou de organizações não-governamentais sobre o panorama geral dos resíduos sólidos evidencia a recente e crescente preocupação com esses materiais. O gerenciamento adequado dos resíduos produzidos nas indústrias agroalimentares, inclusive as produtoras de sucos de frutas, constitui uma das diretrizes preconizadas pela moderna gestão agroindustrial.

A elevada produção relativa de maracujá no país (664 mil toneladas em 2007), o preço relativo do suco concentrado atingido no mercado internacional (dez vezes maior do que o de laranja ou de maçã) e o elevado índice de industrialização (cerca de 50% do total) da variedade *flavicarpa* servem de alerta para a necessidade imediata de estudos relativos aos resíduos gerados. Utilizados por produtores rurais para suplementar a alimentação animal, correspondem a 65-70% da massa total dos frutos e uma vez que esse volume atinge cerca de 200 mil toneladas de resíduo fresco, passa a ser de grande interesse econômico, científico e tecnológico agregar valor a esses produtos derivados do processamento. O pericarpo de maracujá, quando bem tratado e armazenado, poderia ser utilizado como matéria-prima na obtenção de coprodutos com aplicação tecnológica e funcional na indústria alimentícia, como as fibras dietéticas ou outros compostos bioativos.

A pectina, fibra dietética objeto deste estudo, apresenta uma complexa cadeia constituída principalmente pelo ácido galacturônico, além de outros açúcares neutros nas cadeias laterais. Seu emprego em alimentos está associado principalmente às suas propriedades de espessante e geleificante. Industrialmente, a extração de pectina é realizada pela solubilização das cadeias em solventes fracamente ácidos, sob determinadas condições de temperatura e tempo, que influenciam posteriormente o rendimento e as características do produto final obtido. As pectinas extraídas de diferentes matérias-primas podem apresentar características diversas quanto à massa molar, ao grau de esterificação, aos teores de açúcares neutros, à distribuição dos grupos carboxil-metoxilados e às

propriedades de aplicação. Se o processo de extração for conduzido sob condições severas, poderá haver degradação da cadeia, existindo um máximo de rendimento possível. Adicionalmente, o ponto de maior rendimento normalmente não corresponde à pectina com melhor comportamento reológico associado à estrutura da cadeia pectica. O ideal num processo de extração de pectina seria encontrar um equilíbrio entre rendimento e elevada qualidade reológica.

A primeira parte deste trabalho apresenta a revisão de literatura sobre a produção da pectina, a partir das frutas, abordando desde a matéria-prima, processamento e geração de resíduos, até o produto extraído, com suas características físico-químicas, macromoleculares e tecnológicas. Na segunda parte, foi compilado um referencial teórico sobre maracujá-amarelo, a fonte principal para extração de pectina desta pesquisa. Em seguida, foi realizada a caracterização físico-química do pericarpo e das frações, bem como da pectina extraída, visando selecionar a fração do pericarpo mais apropriada para uso como matéria-prima. Foi realizada a comparação entre amostras de pectina de pericarpo de maracujá-amarelo de diferentes origens ou tratamentos térmicos, em condições equivalentes de tempo, temperatura e concentração de ácido nítrico para extração, visando estabelecer o efeito da qualidade da matéria-prima sobre o produto final. Na penúltima parte, as características da pectina extraída do albedo de maracujá-amarelo foram comparadas às obtidas a partir das fontes industriais usuais: o albedo de laranja e bagaço de maçã. E, para finalizar, foi aplicado um delineamento experimental rotacional composto para determinar a influência de três fatores no processo de extração sobre variáveis dependentes e encontrar a melhor faixa de extração para obtenção de pectina com viscosidade mais elevada, correlacionada às características macromoleculares.

Em estudos anteriores sobre extração de pectina de maçã, o enfoque principal foi o rendimento com o uso da ferramenta estatística denominada de metodologia de superfície de resposta. Os resultados obtidos serviram de base para outros trabalhos científicos relacionados ao mesmo assunto, indicando que a condição para extrair pectina com finalidade de maior rendimento resultava num produto com perfil diferente das pectinas comerciais. O processo para produção de pectina comercial não é divulgado em sua totalidade pelas indústrias. É de conhecimento notório a influência de vários fatores na extração tais como: tipo de ácido, temperatura, concentração de ácido e de solvente, características da matéria-

prima, entre outros. A utilização de delineamentos experimentais permite uma melhor compreensão da interação desses fatores entre si e sua influência sobre o rendimento e a qualidade da pectina extraída. Os escassos estudos no país sobre otimização da extração da pectina de casca de maracujá-amarelo se reportam ao grau de esterificação ou ao rendimento, mas ainda são superficiais com relação às características reológicas e macromoleculares, um dos objetivos desta tese. A qualidade da pectina geralmente está associada ao alto grau de esterificação e à viscosidade elevada, embora pectinas de “pior qualidade” também possam ser utilizadas, desde que respeitadas suas características para inserção como ingrediente em uma formulação.

Há necessidade, pois, de que a utilização da casca de maracujá-amarelo como fonte de pectina seja explorada de forma adequada, a fim de que seja possível minimizar o prejuízo econômico e ambiental. A produção de pectina em uma unidade industrial com alto investimento inicial, mas de baixo custo de processo parece ser uma boa alternativa para a oferta de um produto com alto valor agregado.

A partir da elucidação das características moleculares e físico-químicas e também do comportamento reológico da pectina, torna-se necessário estabelecer um modelo de extração em nível de bancada o que permitirá analisar a influência de variáveis independentes e contínuas sobre o rendimento do processo e a qualidade do produto.

Neste trabalho, buscou-se estabelecer este modelo a fim de extrair pectina com poder de geleificação elevado em condições adequadas e viáveis economicamente.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Extração de pectina e promoção de sua qualidade, valorizando um coproduto do processamento do maracujá-amarelo.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar os perfis de qualidade tecnológica de substâncias pécticas isoladas de frações estruturais de maracujá-amarelo.
- Estabelecer a influência da matéria-prima sobre os perfis de qualidade físico-química e reológica de pectina de maracujá.
- Analisar as características intrínsecas de pectinas *passiflórica* (*Passiflora* *sp*), *cítrica* (*Citrus* *sp*) e *málica* (*Malus* *sp*), obtidas de acordo com um protocolo padrão.
- Determinar o efeito de variáveis independentes, contínuas e atuantes como tempo, temperatura e concentração de ácido no processo de extração de pectina de albedo de maracujá sobre as variáveis dependentes: rendimento em massa, grau de esterificação, teores e composição em açúcares, assim como comportamento reológico, a fim de maximizar a qualidade reológica da pectina.

3 PECTINA: DA MATÉRIA-PRIMA AO PRODUTO FINAL

3.1 DEFINIÇÃO E CARACTERÍSTICAS DE FRUTOS

Do ponto de vista da Botânica, o fruto surge como consequência da fecundação dos óvulos contidos nos ovários das flores ou inflorescências das angiospermas, embora possa derivar do desenvolvimento de tecidos reprodutivos não fecundados. A etimologia da palavra indica duas possíveis origens latinas: “*fruor*”, com o significado de “deleito-me no interior” ou “*fructus*”, produto da terra que pode ser usufruído pelos homens ou animais. O termo fruta corresponderia à parte comestível carnosa e adocicada, mesmo resultante do desenvolvimento de outros órgãos, além dos ovários (CHITARRA; CHITARRA, 2005, LOZANO, 2006). Alguns vegetais com uso culinário em sobremesas ou crus, devido ao aroma de seus ésteres orgânicos, também são denominados frutas (HAARD; CHISM, 2000), como a abóbora.

A complexidade de se classificar as frutas deriva da diversidade de características morfológicas, botânicas ou fisiológicas. Para essa classificação, observa-se [1] a consistência do pericarpo, [2] a presença de abertura para liberação das sementes, [3] o número de ovários e de carpelos de origem, e de sementes, [4] o desenvolvimento de acessórios florais além do ovário e [5] a produção de etileno na maturação (CHITARRA; CHITARRA, 2005). A região nativa permite classificar as frutas como de climas temperados, subtropicais e tropicais (LOZANO, 2006). Dentre as nove categorias de frutas e vegetais, o maracujá, fruta tropical ou subtropical, é classificado como um fruto amorfo, pertencendo à mesma categoria da goiaba e da graviola (BATES; MORRIS; CRANDAL, 2001), do tipo baga, com pequena estrutura carnosa e firme sob a pele, que apresenta sementes com arilo carnoso (FAEP, 2010).

Comparado ao aroma e sabor, os aspectos de nutrição são pouco considerados na cadeia de comercialização de frutas e hortaliças, que apresentam importante papel na alimentação humana enquanto fontes de vitaminas, minerais e fibras alimentares bem como de outros metabólitos. Os vegetais consumidos apresentam importância do ponto de vista multifuncional, tais como os ácidos orgânicos, ésteres, alcoóis, flavonoides, glicosídeos, aminoácidos, terpenos entre outros (CHITARRA; CHITARRA, 2005). Existem diferenças entre espécies e entre os

órgãos individuais dos vegetais, constituídos por tecidos vivos e metabolicamente ativos, com trocas contínuas em sua composição. Os componentes da parede celular são os principais integrantes da fibra dietética, grupo de substâncias constituído por polímeros não digeríveis, com reconhecidos efeitos sobre a saúde (HAARD; CHISM, 2000).

Os componentes das fibras alimentares das frutas possibilitam seu enquadramento na categoria de alimentos funcionais, enquanto interferem em uma ou mais funções orgânicas de maneira positiva e/ou como prebióticos, por estimular o crescimento da microbiota benéfica do cólon (FILISSETTI; LOBO, 2007). A pectina, tema principal deste estudo, pode ser enquadrada como fibra dietética solúvel, embora, em solução, forme uma dispersão coloidal em função do tamanho das partículas (JAFELICCI JR; VARANDA, 1999). Na Tabela 1 podem ser encontrados os teores aproximados de pectina em diferentes fontes vegetais.

TABELA 1-CONTEÚDO DE PECTINA DE ALGUNS FRUTOS.

| Fruto | % em matéria fresca ^a | % matéria seca ^b |
|--|----------------------------------|-----------------------------|
| Maçã (<i>Malus sp.</i>) | 0,5-1,6 | 4-7 |
| Bagaço de maçã | 1,5-2,5 | 15-20 |
| Albedo cítrico (<i>Citrus sp.</i>) | - | 30-35 |
| Casca de laranja (<i>Citrus sinensis</i>) | 3,5-5,5 | - |
| Maracujá (<i>Passiflora edulis S.</i>) | 0,5 | - |
| Maracujá gigante (<i>Passiflora quadrangularis L.</i>) | 0,4 | - |
| Casca de maracujá | 2,1-3,0 | - |
| Batata | - | 2,5 |
| Banana (<i>Musa acuminata</i>) | 0,7-1,2 | - |
| Beterraba (<i>Beta vulgaris</i>) | 1,0 | - |
| Bagaço de beterraba | - | 15-20 |
| Carambola (<i>Averrhoa carambola</i>) | 0,7 | - |
| Cenoura (<i>Daucus carota</i>) | 0,2-0,5 | 10 |
| Goiaba (<i>Psidium guajava</i>) | 0,8-1,0 | - |
| Polpa de limão (<i>Citrus lemon</i>) | 2,5-4,0 | - |
| Lichia (<i>Litchi chinensis S.</i>) | 0,4 | - |
| Manga (<i>Mangifera indica L.</i>) | 0,2-0,4 | - |
| Mamão (<i>Carica papaya</i>) | 0,7-1,0 | - |
| Pêssegos (<i>Prunus persica</i>) | 0,1-0,9 | - |
| Abacaxi (<i>Ananas comosus L.</i>) | 0,04-0,1 | - |
| Morangos (<i>Fragaria ananassa</i>) | 0,6-0,7 | - |
| Tamarindo (<i>Tamarindus indica L.</i>) | 1,71 | - |
| Tomate (<i>Lycopersicon esculentum</i>) | 0,2-0,6 | 3 |

FONTE: THAKUR; SINGH; HANDA, 1997^a e THIBAUT; PETIT, 1979^b.

3.2 DA PRODUÇÃO AGRÍCOLA À INDUSTRIALIZAÇÃO

Nos países em desenvolvimento, a produção de frutas e verduras *per capita* aumentou em um terço desde a década de 1960. Quanto maior a renda de uma população, maior a tendência em consumir alimentos não integrantes das culturas básicas, como produtos hortícolas e de origem animal, favorecendo a tendência para

aumento contínuo na produção mundial de frutas, todavia com oscilação (CONWAY, 2003). Na Tabela 2 está indicado o montante total de frutas e legumes nos maiores produtores do ano de 2004, em determinados períodos, segundo a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura-FAO.

TABELA 2-PRODUÇÃO DE FRUTAS E LEGUMES NOS DEZ PRINCIPAIS PRODUTORES MUNDIAIS ENTRE 1979-2004 (EM PERÍODOS INTERMITENTES)*.

| Países | Produção (milhões de toneladas-MT) | | | | |
|-----------|------------------------------------|-----------|-----------|--------|--------|
| | 1979-1981 | 1989-1991 | 1999-2001 | 2003 | 2004 |
| China | 67,5 | 150,2 | 387,9 | 488,7 | 506,6 |
| Índia | 56,5 | 76,1 | 117,4 | 126,6 | 127,6 |
| EUA | 51,9 | 56,4 | 68,1 | 65,9 | 69,4 |
| Brasil | 22,9 | 36,0 | 42,9 | 44,0 | 43,8 |
| Turquia | 21,0 | 27,0 | 35,2 | 37,4 | 36,0 |
| Itália | 34,0 | 32,0 | 33,9 | 29,9 | 34,3 |
| Espanha | 21,1 | 24,5 | 27,9 | 30,4 | 29,4 |
| Irã | 8,2 | 14,8 | 24,2 | 26,6 | 26,6 |
| México | 11,8 | 16,0 | 23,0 | 24,6 | 24,8 |
| Egito | 9,7 | 13,4 | 21,4 | 23,3 | 24,1 |
| Indonésia | 6,7 | 10,3 | 15,4 | 20,4 | 22,4 |
| Mundo | 629,7 | 812,7 | 1207,6 | 1345,0 | 1383,6 |

* É possível a elaboração de tabelas com dados recentes, disponíveis para consulta direta na página oficial de estatísticas da FAO (FAOSTAT); contudo, essas quantidades podem sofrer alterações ocasionais, em função de modificações na classificação e definição dos produtos, além de serem disponibilizadas com atraso médio de dois anos.

FONTE: FAO, 2009a

Na Figura 1 está esquematizado o percentual relativo dos principais produtores mundiais no ano de 2004, demonstrando a liderança absoluta da China, com produção de 36,6%, maior que a soma dos dez países seguintes no rol de principais produtores (31,6%) e que de todos os demais países reunidos, classificados posteriormente (31,8%).

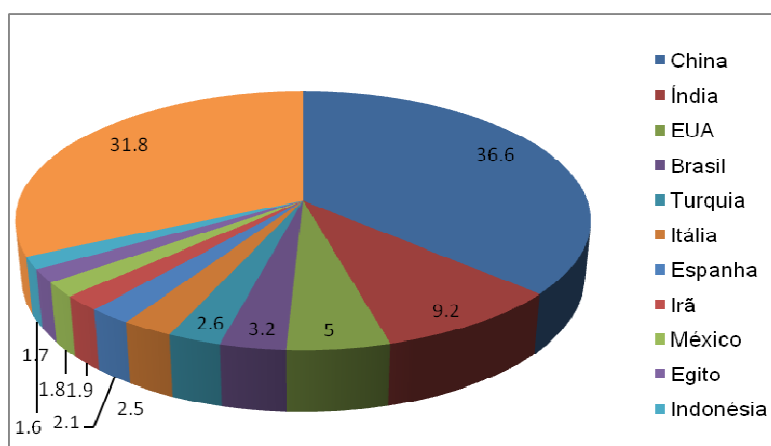


FIGURA 1-PERCENTUAL DA PRODUÇÃO DE FRUTAS E LEGUMES NOS DEZ PRINCIPAIS PRODUTORES MUNDIAIS EM 2004.

FONTE: FAO, 2009a.

Entretanto, se isolada apenas a produção de frutas, sem considerar os legumes, em 2003, essa alcançou 379 milhões de toneladas. A China despontou como o maior produtor mundial, com cerca de 20%, seguida pela União Européia com 14% e pela Índia com 12% (KIPE, 2004).

A evolução da produção das cinco frutas com maior expressividade global, em 2007, está ilustrada na Figura 2. Essas foram a melancia (97 MT), seguida pela banana (86 MT) e praticamente empatadas a uva (67 MT), a maçã (66 MT) e a laranja (65 MT). Quanto ao Brasil, segundo dados obtidos na mesma data, as principais frutas produzidas foram laranjas (18,7 MT), bananas (7,1 MT), abacaxis (2,7 MT), melancias (2,1 MT) e uvas (1,4 MT) (FAO, 2009b).

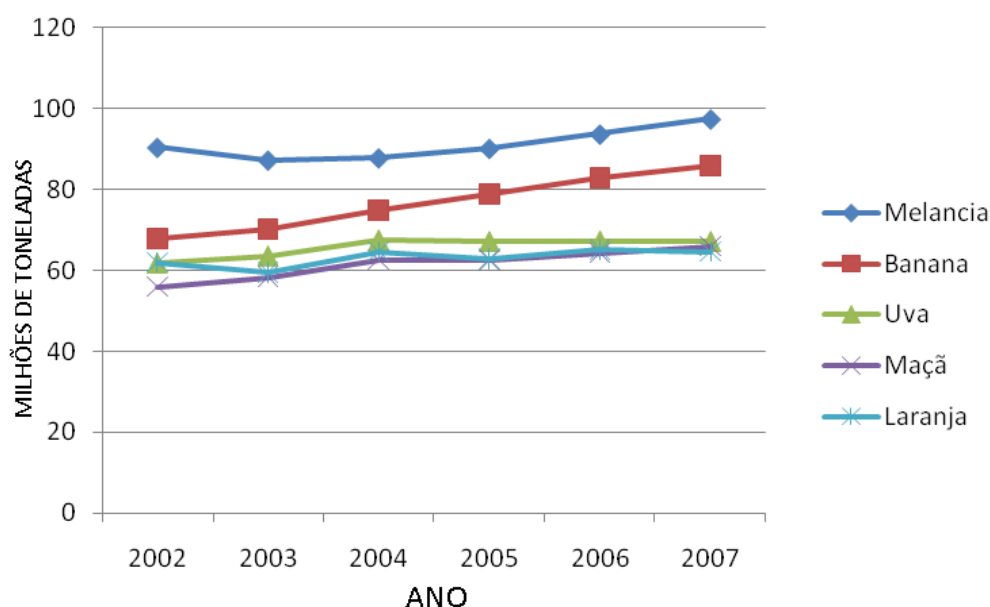


FIGURA 2-PRODUÇÃO MUNDIAL DAS FRUTAS EM LIDERANÇA ENTRE OS ANOS DE 2002 E 2007, EM MILHÕES DE TONELADAS.

FONTE: FAO, 2009b.

O processamento de alimentos tem como principal objetivo a redução da atividade microbiana e das alterações químicas, modificando ao mínimo os atributos de qualidade. As células do tecido morrem durante o processamento, como no caso da produção de suco, e ocorrem reações químicas, dependentes de fatores como a concentração, disponibilidade e mobilidade dos substratos, pH, potencial óxido-redutor e presença de inibidores ou catalisadores. A ruptura celular influencia as reações de escurecimento e o processo de formação de aromas (HAARD; CHISM,

2000). As matérias-primas destinadas ao processamento apresentam suas características de qualidade relacionadas ao mercado de destino, sendo os atributos divididos em três categorias: as sensoriais, as intrínsecas, correspondentes ao valor nutritivo e ausência de substâncias tóxicas, e as quantitativas, ligadas ao rendimento do produto derivado (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

A manufatura dos sucos é tão ou mais antiga que a agricultura. No amadurecimento, a maioria das frutas amacia até o ponto em que simplesmente a pressão ou o transporte liberam o sumo, embora quase sempre parcialmente fermentado. Em tempos remotos, as frutas transportadas em longas distâncias já garantiam suco, mesmo que apenas por poucas horas antes do início da fermentação, consequência frequentemente desejada até que as técnicas de preservação fossem desenvolvidas. Contudo, a manutenção da fruta intacta é ainda uma das melhores maneiras de se preservar a qualidade do suco. Em função da praticidade, das novas tecnologias para a conservação, da possibilidade de combinações de sabores e do papel nutricional, a tendência para consumo de sucos aumentou consideravelmente nas últimas décadas (BATES; MORRIS; CRANDAL, 2001).

Um importante desenvolvimento no mercado de frutas foi o acréscimo no consumo e na exportação de produtos processados, polpas e concentrado, originários de países tropicais. Isso foi devido principalmente ao aumento do número de turistas, aos sistemas mais aprimorados de transporte e distribuição e às melhorias nos métodos de cultivo e processamento (ASKAR, 1998). A partir dos anos 1990, as agroindústrias processadoras assumiram papel relevante, em função do aumento da aquisição de sucos processados na área urbana, o que influenciou o mercado dos frutos *in natura* (GONÇALVES; SOUZA, 2006).

O mercado de sucos tropicais desenvolveu-se no início dos anos 1970, como alternativa ao suco de laranja, em resposta às curtas safras dessa fruta. Facilidades de produção foram implantadas na América Latina por europeus interessados em investimentos e, gradualmente, o “flavor” das frutas exóticas alcançou os mercados industrializados. A abrangência dessas frutas tropicais também foi ampliada, particularmente da manga, da banana, da goiaba e do maracujá (LINDEN, 2004). Segundo projeção, no ano de 2010, a produção mundial de frutas tropicais deverá atingir 62 milhões de toneladas, sendo os países em desenvolvimento responsáveis por 98% desse montante (FAO, 2003).

A América do Sul é rica em frutas exóticas recomendadas para produtos inovadores, disponíveis o ano todo no mercado mundial sob a forma de purês, sucos concentrados ou extratos orgânicos (bio-qualidade) ou convencionais. Podem ser misturadas entre si sem dificuldades tecnológicas com promessa de alta margem de lucro. Novas bebidas podem ser desenvolvidas usando frutas tropicais, nas quais se combina o sabor exótico e os benefícios à saúde. Na Figura 3 está demonstrado o aumento substancial na introdução de novos produtos com frutas tropicais.

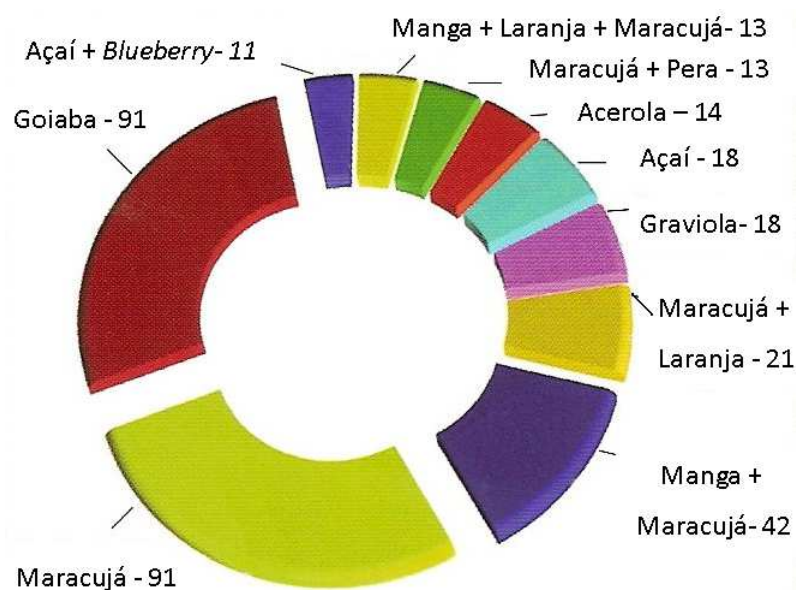


FIGURA 3-NOVAS BEBIDAS CLASSIFICADAS DE ACORDO COM TIPOS SELECIONADOS, NO MERCADO GLOBAL, ENTRE MARÇO DE 2008 E MARÇO DE 2009.

FONTE: KNIEPERT, 2009.

O suco de maracujá pode ser considerado ainda uma bebida exótica frente aos de maçã e laranja, os mais consumidos em escala global, refletido no valor comparativo de mercado dos sucos concentrados. Segundo dados de setembro de 2009 (CONFRUCTA STUDIEN, 2009), o suco concentrado a 50 °Brix de maracujá atinge no mercado internacional um valor cerca de dez vezes maior que os de laranja e de maçã, em igual concentração.

3.3 GESTÃO DE RESÍDUOS DO PROCESSAMENTO DE FRUTAS

O produto, cuja fabricação é intencional, é o propósito da indústria. Entretanto, são gerados outros materiais, de origem não intencional, os resíduos (TIMOFIECSYK *et al.*, 2000). A preocupação com esses “subprodutos”, embora relativamente recente, já havia sido discutida durante a Conferência das Nações Unidas sobre Meio Ambiente e Desenvolvimento Humano (CNUMAD), no Rio de Janeiro, em 1992-Rio 92. No Capítulo 21, da Agenda 21, plano de ação global sobre desenvolvimento sustentável, assinado por 179 países, são citadas as quatro principais áreas de programas relacionadas a resíduos (BRASIL, 2007): [1] redução ao mínimo; [2] aumento da reutilização e reciclagem ao máximo; [3] promoção do depósito e tratamento, ambientalmente saudáveis; [4] ampliação do alcance dos serviços que se ocupam desses resíduos.

Além de criar potenciais problemas ambientais, os resíduos sólidos representam perdas de matérias-primas e energia, pois podem conter substâncias de alto valor agregado. Com a técnica adequada, esse material pode ser convertido em produtos comerciais ou matérias-primas para processos secundários (PELIZER, PONTIERI, MORAES, 2007).

Seis milhões de toneladas de resíduos sólidos industriais foram enviadas para tratamento e disposição final em setores especializados, no ano de 2008, demonstrando a consolidação desse mercado. Entretanto, a situação integral desses resíduos e o tamanho dos esforços a serem estabelecidos para seu gerenciamento permanecem na dependência da continuidade dos inventários recentemente elaborados e na necessidade de elaboração de novos (ABRELPE, 2008)

De acordo com a Resolução do CONAMA n.º 313, de 29 de outubro de 2002 (ANEXO 1), que dispõe sobre o Inventário Nacional de Resíduos Sólidos Industriais, até 2002 não havia informações precisas sobre a quantidade, os tipos e os destinos dos resíduos sólidos gerados no parque industrial do país (BRASIL, 2002). O Anexo II dessa Resolução classifica os resíduos de frutas (bagaço, mosto, casca, etc. *sic*) como A999, dentro da categoria Classe II ou Classe III dos Resíduos Sólidos Industriais. Considera-se que o gerenciamento de resíduos sólidos deveria compreender as etapas de segregação, acondicionamento, coleta, armazenamento, transporte, tratamento e disposição final (BRASIL, 2006). Os subprodutos do

processamento agroindustrial representam um desafio interdisciplinar para minimizar a quantidade de resíduos numa utilização viável e eficiente, como fontes de compostos com propriedades tecnológicas e nutricionais (SCHIEBER; STINTZING; CARLE, 2001).

O significativo aumento nas agroindústrias provoca um acréscimo na produção de resíduos, sendo a indústria de suco de frutas produtora de elevada quantidade desses, com potenciais problemas para disposição final. Esses coprodutos podem ser potencialmente utilizados como constituintes de ração animal. Entretanto, o conteúdo de fibra dietética torna possível o desenvolvimento de novos ingredientes naturais para a indústria alimentícia (FERRARI; COLUSSI; AYUB, 2004, FIGUEROLA *et al.*, 2005; LOUSADA JÚNIOR *et al.*, 2006).

A pectina apresenta-se como uma alternativa importante, com agregação de valor e solução parcial para o tratamento e para a disposição final no processo global do gerenciamento de resíduos sólidos, pela minimização do volume a ser descartado, entre 40-70% do total, variável conforme a fruta de origem. Já em 1940, cerca de 60% da pectina produzida no mundo era de bagaço cítrico, devido à abundância de matéria-prima gerada pela industrialização de sucos cítricos (KERTESZ, 1951). Hermann Herbstreith descobriu, na década de 1930, o potencial de uso e aplicação do bagaço de maçã, subproduto até então descartado da produção do suco (H&F, 1998). Recentemente, há estudos sobre potencial de uso do bagaço de maçã na recuperação de compostos fenólicos nativos, associados ao escurecimento, para utilização como agentes antioxidantes, resultando na coloração mais clara da pectina obtida (SCHIEBER *et al.*, 2003). Isso aponta a tendência crescente das indústrias em buscar alternativas que promovam o fechamento da “reciclagem” de um resíduo, com o máximo de aproveitamento possível e por meio da maior exploração comercial possível dos componentes antes considerados como subprodutos.

3.4 SUBSTÂNCIAS PÉCTICAS

Provavelmente a mais complexa macromolécula na natureza e um dos principais componentes da parede celular (VORAGEN *et al.*, 2009), a pectina refere-se a uma família de oligossacarídeos e polissacarídeos, com características comuns,

todavia extremamente diversos em sua estrutura fina. O esqueleto péctico é primariamente um homopolímero de ácido galacturônico ligado em 1→4, com grau variável de grupos carboxilas metil esterificados (VORAGEN *et al.*, 1995; PÉREZ; RODRÍGUEZ-CARVAJAL; DOCO, 2003; WILLATS; KNOX; MIKKELSEN, 2006; VORAGEN *et al.*, 2009).

A pectina deve ser constituída de, ao menos, 65% de ácido galacturônico, segundo a FAO e EU (União Européia) (WILLATS; KNOX; MIKKELSEN, 2006). Segundo o Food Chemical Codex, as pectinas consistem principalmente de ácidos galacturônicos parcialmente metil-esterificados e seus sais de sódio, potássio, cálcio ou amônio. Essas substâncias podem ser encontradas na forma de pó, de coloração branca, amarela clara, acinzentada ou levemente escurecida. Quando dissolvidas em água, formam dispersão coloidal e opalescente, sendo praticamente insolúveis em álcool (FCC, 1996).

3.4.1 Histórico

Como a pectina correlaciona-se intimamente com a fabricação de geleias, considera-se que as primeiras citações sobre o assunto foram em 1750, num artigo inglês sobre preparação de geleia de maçãs (KERTESZ, 1951). A descoberta da pectina, enquanto composto químico, foi feita por Vauquelin em 1790. Braconnot, no ano de 1824, foi o primeiro a caracterizá-la como composto das frutas responsável pela formação do gel e sugerir o nome pectina, proveniente do grego *πηχτοζ*, que significa espesso (BRAVERMAN; BERK, 1976). A ocorrência de substâncias pécticas diferindo em solubilidade e facilidade de extração é conhecida desde 1848, quando Fremy reportou a existência de um precursor péctico insolúvel em água, denominado posteriormente de protopectina por Tschirch (JOSLIN; DEUEL, 1963). Durante a investigação da turbidez de suco, Kelhofer, em 1908, concluiu que o sedimento observado em fermentado de pera compreendia um complexo de proteínas, pectinas e compostos fenólicos oxidados (NOGUEIRA *et al.*, 2008). Até os anos 1930, a pectina era considerada como uma pequena estrutura cíclica. Smolenski, em 1923, foi o primeiro a sugerir que a pectina era um polímero complexo, comparável em estrutura ao amido, sendo que as análises de raios-X concordavam com essa hipótese, mas indicaram que a comparação com a celulose

é mais lógica (OWENS *et al.*, 1946). De acordo com Meyer e Mark (1930), os ácidos pectínicos apresentam grupos metil-éster ligados em 1→4 (BAKER, 1948) e a fórmula básica foi estabelecida por Schneider e Bock, em 1937 (CYBERCOLLOIDS, 2008). Nessa época, já foi discutida a dificuldade em estabelecer estudos comparativos quanto à composição, ao tipo e à distribuição dos compostos pectínicos em vegetais, devido aos diferentes métodos de extração e análises empregados (ELWELL; DEHNT, 1939).

3.4.2 Aplicações

No setor industrial, os polissacarídeos pectínicos promovem aumento de viscosidade e funcionam como coloide estabilizante e protetor em alimentos e bebidas, com aplicação em doces e geleias, preparações de frutas para iogurtes, bebidas e sucos de frutas concentrados, sobremesas de frutas e leite, produtos lácteos gelificados, produtos de confeitaria e produtos lácteos acidificados diretamente ou fermentados. Dentre outras propriedades estão a prevenção de flotação em preparados de frutas, a estabilidade de produtos de panificação, a estabilização proteica, a maciez a partir da melhoria da textura, o aumento do volume e o controle da sinérese (CPKELCO, 2002; VORAGEN *et al.*, 2009).

Com relação aos efeitos farmacológicos da pectina, considera-se que no grande grupo das fibras dietéticas, integra o grupo dos polissacarídeos não-amiláceos, juntamente com gomas, hemiceluloses, β -glucanas, entre outros. Embora esses compostos não sejam degradados por enzimas humanas, podem ser pela microbiota natural, especialmente durante a passagem pelo intestino grosso (BRODY, 1994). Com implicações benéficas do equilíbrio hídrico e motilidade intestinal, as substâncias pectínicas são inadequadamente denominadas de fibras solúveis, visto que em solução são encontradas sob a forma de dispersão coloidal (JAFELICCI JUNIOR; VARANDA, 1999; WOSIACKI; NOGUEIRA, 2005). A capacidade de formação de géis pela pectina está relacionada à quantidade de grupos polares livres (como as hidroxilas), à estrutura tridimensional, ao pH, aos eletrólitos presentes no meio, à solubilidade e concentração da pectina na dispersão, à massa molar, ao grau de metilação, à natureza e à qualidade da fruta a ser geleificada, à tecnologia (procedimento, material de cozimento e temperatura, entre

outros), à distribuição dos grupamentos ao longo da cadeia péctica e à composição das cadeias laterais (THIBAUT; PETIT, 1979, THIBAUT *et al.*, 1991, FILISETTI; LOBO, 2007). Com efeitos prébióticos, a cadeia péctica pode ser transformada em ácidos graxos de cadeia curta (acético, butírico e propiônico), bem como em dióxido de carbono, pela ação de bactérias produtoras de enzimas pectinolíticas dos gêneros Aerobacillus, Lactobacillus, Micrococcus e Enterococcus. Assim, a pectina apresenta fraca tendência laxativa e estimulam o crescimento da microbiota no cólon (MATTESS, 2005). Existem outras propriedades de promoção à saúde, comprovadas cientificamente, associadas às substâncias pécticas. Dentre essas, podem ser destacadas: [1] redução do colesterol total pelo decréscimo da absorção do colesterol exógeno, em função do caráter hidrofóbico dos grupamentos metil-éster; [2] ligação com produtos de degradação no cólon, aumento da excreção de ácidos biliares e redução da reabsorção de ácidos biliares no intestino e no fígado; [3] diminuição das frações popularmente conhecidas como mau colesterol (LDL) e embora não altere o bom colesterol (HDL), também pode ser protetora contra a aterosclerose por melhorar a razão HDL/LDL; [4] aumento da viscosidade do líquido da digestão e da espessura da camada da parede intestinal interna, reduzindo a absorção de glucose; [5] redução do peso corporal pela imobilização de nutrientes nos intestinos, aumento da sensação de saciedade e diminuição da atividade de certas enzimas, que leva à menor digestão e absorção; [6] ligação a metais pesados e a microrganismos tóxicos no cólon, impedindo a reabsorção das toxinas por estes produzidas (ENDRESS, 1991; H&F, 1998).

Com relação aos possíveis efeitos negativos, há estudos indicando a ligação de pectinas de baixa metoxilação com cátions bivalentes, o que influenciaria negativamente a absorção de zinco. Isso, porém, é contraditório, visto que a degradação da pectina ocorre no cólon, e esse mineral ainda pode ser absorvido nessa porção do intestino, após a hidrólise (FILISETTI; LOBO, 2007).

Como uso não alimentício, a pectina serve à produção de uma variedade de produtos especiais, incluindo filmes biodegradáveis e comestíveis, adesivos, substitutos de papel, espumas e plastificantes, agentes de superfície para produtos médicos, materiais para implantes biomédicos e sistemas de liberação de fármacos (MOHNEN, 2008).

3.4.3 Estrutura molecular

Em 1934, as pectinas cítricas foram reconhecidas como cadeias lineares de ácido galacturônico (Figura 4) e desde então, evidenciou-se que a pectina é uma molécula altamente complexa e o recente grande desafio é acomodar toda informação disponível em um único modelo estrutural (VORAGEN *et al.*, 2009).

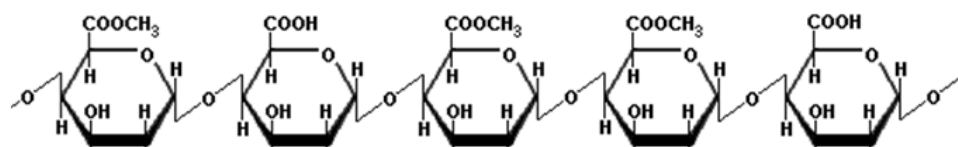


FIGURA 4-ESTRUTURA DO ACIDO POLIGALACTURONICO

As pectinas são formadas por dezessete diferentes monossacarídeos, organizados em polissacarídeos distintos, a partir de mais de vinte diferentes ligações para formação de uma rede quando unidos (VINCKEN *et al.*, 2003; VORAGEN *et al.*, 2009), agrupados em diferentes tipos de cadeia, cujas estruturas esquemáticas estão representadas na Figura 5 e detalhadas a seguir.

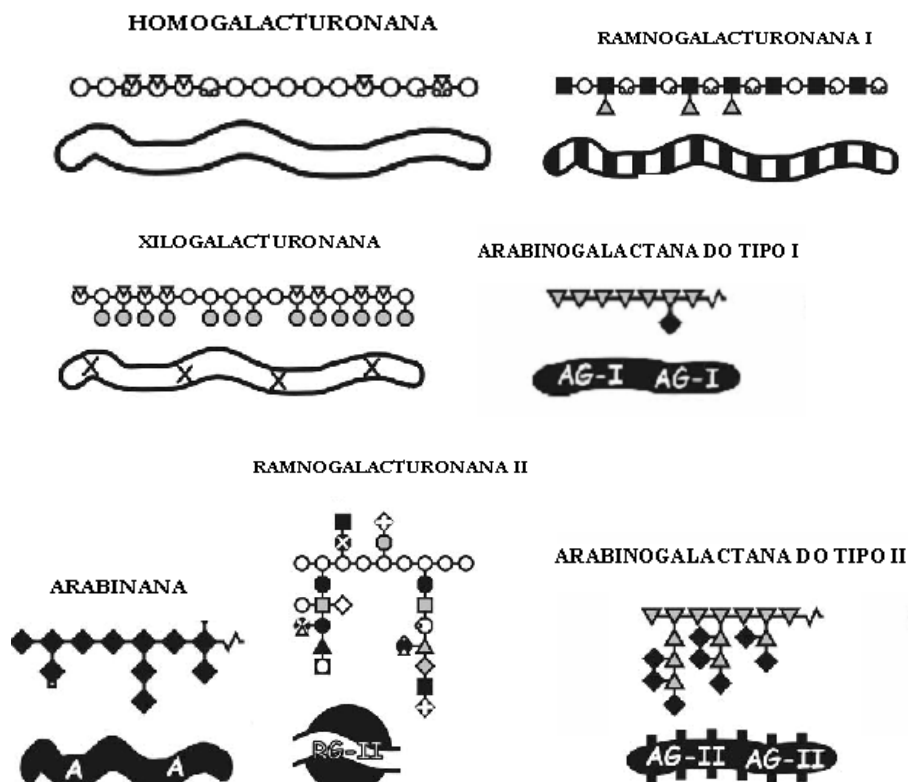


FIGURA 5-ELEMENTOS ESTRUTURAIS DAS MOLÉCULAS DE PECTINA.

FONTE: VINCKEN *et al.*, 2003.

As cadeias estão constituídas por ácidos urônicos, hexoses, pentoses e metil-pentoses e essas diversas unidades estruturais podem estar substituídas por metanol, ácido acético e ácidos fenólicos. Os açúcares podem existir nas formas furanosídicas ou piranosídicas e com diferentes anômeros (α ou β), com diversos tipos de ligações entre os monômeros, tais como, $\alpha(1\rightarrow4)$, $\alpha(1\rightarrow5)$, $\beta(1\rightarrow3)$ e $\beta(1\rightarrow4)$ e $\beta(1\rightarrow6)$ (THIBAUT *et al.*, 1991).

A homogalacturonana (HG) é o mais abundante polissacarídeo péctico na parede celular, correspondente a cerca de 60-65% do total da pectina (MOHNEN, 2008; VORAGEN *et al.*, 2009). Apresenta unidades de ácido α -D-galactopiranosilurônico em ligações $1\rightarrow4$ num padrão linear. Os grupos carboxilas estão parcialmente metil-esterificados. As cadeias podem ser, em função da fonte vegetal, parcialmente O-acetiladas no C-3 ou C-2 (VINCKEN *et al.*, 2003; MOHNEN, 2008). Suas fitas contam com cerca de cem unidades monossacarídicas, embora regiões mais curtas de HG tenham sido detectadas interdispersas entre outros polissacarídeos pécticos. Pode conter outros ésteres potencialmente unidos em ligações cruzadas de estrutura não conhecida (MOHNEN, 2008).

A ramnogalacturonana I (RG-I) apresenta uma cadeia representada pelo dissacarídeo $[\rightarrow4-\alpha\text{-D-GalA-(1}\rightarrow2\text{)-}\alpha\text{-L-Rha-(1}\rightarrow)]_n$ (VINCKEN *et al.*, 2003; WILLATS; KNOX; MIKKELSEN, 2006; MOHNEN, 2008; VORAGEN *et al.*, 2009). Entre 20 e 80% das unidades ramnosil no esqueleto RG-I tem cadeias laterais contendo principalmente $\alpha\text{-L-Araf}$ e/ou $\beta\text{-D-GalAp}$ (arabinanas, galactanas e arabinogalactanas). As cadeias laterais podem também conter unidades de $\alpha\text{-L-Fucp}$, $\beta\text{-D-GlcpA}$, $4\text{-O-Me-}\beta\text{-D-GlcpA}$ (MOHNEN, 2008). Os ácidos ferrúlico e cumárico também podem ser encontrados em raras espécies (VINCKEN *et al.*, 2003). As unidades de GalpA podem estar O-acetilados nas posições C-2 ou C-3. Em resumo, uma variedade de diferentes cadeias de glicanas (principalmente arabinana e galactana) está ligada às unidades de ramnose. O comprimento das cadeias pode variar consideravelmente e a composição de açúcares de RG-I pode ser altamente heterogênea (WILLATS; KNOX; MIKKELSEN, 2006). A RG-I representa 20-35% da pectina, com alto grau de especialização celular e expressão dependente do desenvolvimento, no tipo e número de açúcares simples e

oligossacarídeos ligados a essa cadeia. A razão para esse nível de variação em RG-I não é conhecida, mas sugere diversidade funcional.

A ramnogalacturonana II (RG-II) é o segmento estruturalmente mais complexo e compõe 10 % da pectina. Essa estrutura, altamente conservada na maior parte das espécies vegetais, consiste de um esqueleto de homogalacturonana de ao menos oito (provavelmente mais) unidades monoméricas, contendo cadeias laterais de até 12 diferentes tipos de açúcares, alguns muito peculiares como apiose, ácido acérico, ácido 3 deoxi-lixo-2-heptulosárico (DHA) e ácido 3 deoxi-mano-2-octulosônico (KDO). A RG-II usualmente existe em paredes celulares como dímeros em ligações cruzadas por um borato diol éster entre unidades apiosil na cadeia lateral (WILLATS; KNOX; MIKKELSEN, 2006; VORAGEN *et al.*, 2009).

A xilogalacturonana (XGA) é uma homogalacturonana substituída com xilose ligada na posição 3. O grau de xilosidação pode variar entre 25% (melancia) a 75% (maçã). Essa xilose pode ser adicionalmente substituída em O-4 com outra xilose em ligação β , sendo mais prevalente em tecidos reprodutivos como frutas e sementes (MOHNEN, 2008; VORAGEN *et al.*, 2009).

A arabinogalactana I (ARA-I) é composta por esqueleto β -D-Galp; resíduos de α -L-Araf podem estar ligados às unidades galactosil na posição 3 (VINCKEN *et al.*, 2003). A arabinogalactana II (ARA-II) está principalmente associada com proteínas (3-8%), também denominadas arabinogalactanas-proteínas (AGPs). A AG-II é composta de um esqueleto β -D-Galp 1 \rightarrow 3, contendo curtas cadeias de [α -L-Araf (1 \rightarrow 6) β -D-Galp (1 \rightarrow 6)]_n onde n=1, 2 ou 3. A parte proteica é rica em prolina, hidroxiprolina, alanina, serina e treonina (VORAGEN *et al.*, 2009). A arabinana (ARA) consiste de um esqueleto de α -L-Araf em ligações 1 \rightarrow 5, onde podem estar cadeias laterais de α -L-Araf (1 \rightarrow 2) e α -L-Araf (1 \rightarrow 3) e/ou cadeias laterais de α -L-Araf (1 \rightarrow 3) α -L-Araf (1 \rightarrow 3) (VINCKEN *et al.*, 2003).

Existe também outra cadeia não representada esquematicamente, a apiogalacturonana (API), HG substituída em O-2 ou O-3 com D-apiofuranose. Está presente em monocotiledôneas aquáticas como *Lemna* (MOHNEN, 2008)

Há alguns modelos propostos para hipotetizar como essas cadeias estariam ligadas (VINCKEN *et al.*, 2003). O esqueleto péctico é uma cadeia com regiões HG e RG-I. As regiões HG podem estar interrompidas com unidades ramnosil. As

regiões “lisas” são principalmente compostas por HG. As regiões “em cabeleira” consistem de RG-I e mais regiões não mostradas neste modelo para simplificação XGA, arabinana e AG-I (Figura 6).

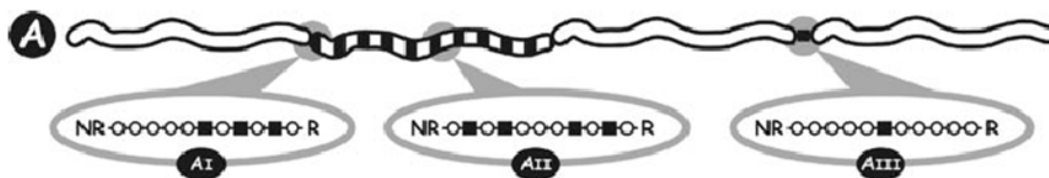


FIGURA 6-MODELO USUAL DE PECTINA COM REGIÕES LISAS E RAMIFICADAS.

FONTE: VINCKEN *et al.*, 2003.

Nas representações de B até D (Figura 7), estão representados modelos de pectina onde RG-I está substituído com cadeias de açúcares neutros. Não se conhece como HG está ligado ao RG-I. É possível que exista uma molécula única de pectina, na qual somente um tipo de cadeia esteja presente (B), ou que várias cadeias laterais estejam distribuídas de forma randomizada no polímero RG-I (C) ou arranjadas na forma de um conjunto (*cluster*) (D). A abundância das várias unidades de polissacarídeos e seu comprimento é arbitrário, bem como a posição em RG-II no polímero HG. A exata orientação das ramificações permanece ainda a ser estabelecida (VINCKEN *et al.*, 2003).

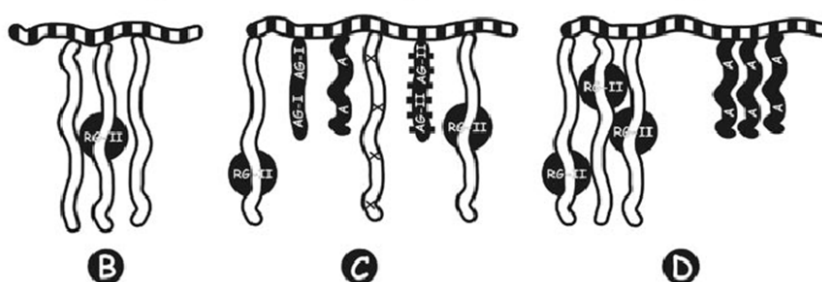


FIGURA 7-POSSÍVEL DISTRIBUIÇÃO DE CADEIAS NUMA MOLÉCULA PÉCTICA.

FONTE: VINCKEN *et al.*, 2003.

Estudos recentes permitiram esquematizar estruturas hipotéticas da pectina, com breves modificações de acordo com novas evidências analíticas. Alguns desses modelos recentes estão contemplados nas figuras a seguir.

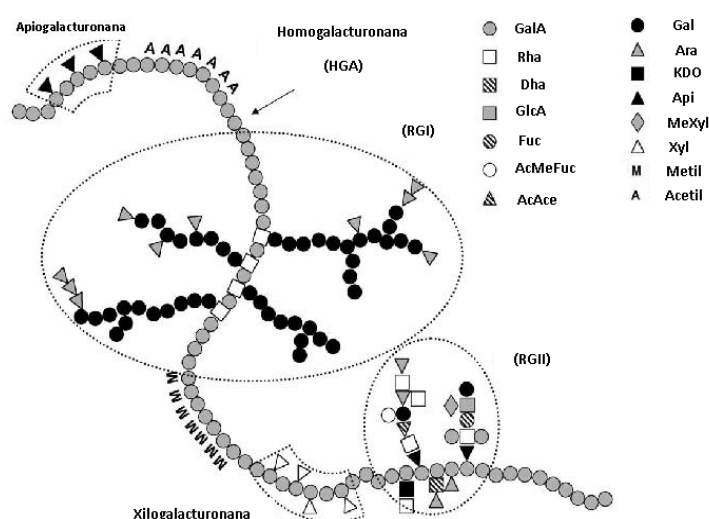


FIGURA 8-HIPÓTESE DE ESTRUTURA PARA MOLÉCULA DE PECTINA.
FONTE: PÉREZ; RODRÍGUEZ-CARVAJAL; DOCO, 2003.

Na representação esquemática de Pérez, Rodríguez-Carvajal e Doco (2003), as cadeias de HGA, RG-I e RG-II são consideradas como covalentemente ligadas, embora esse ponto não esteja firmemente estabelecido (Figura 8). Willats, Knox e Mikkelsen indicam a alternativa de modelo proposta a partir da representação convencional anteriormente mais usual (Figura 9).

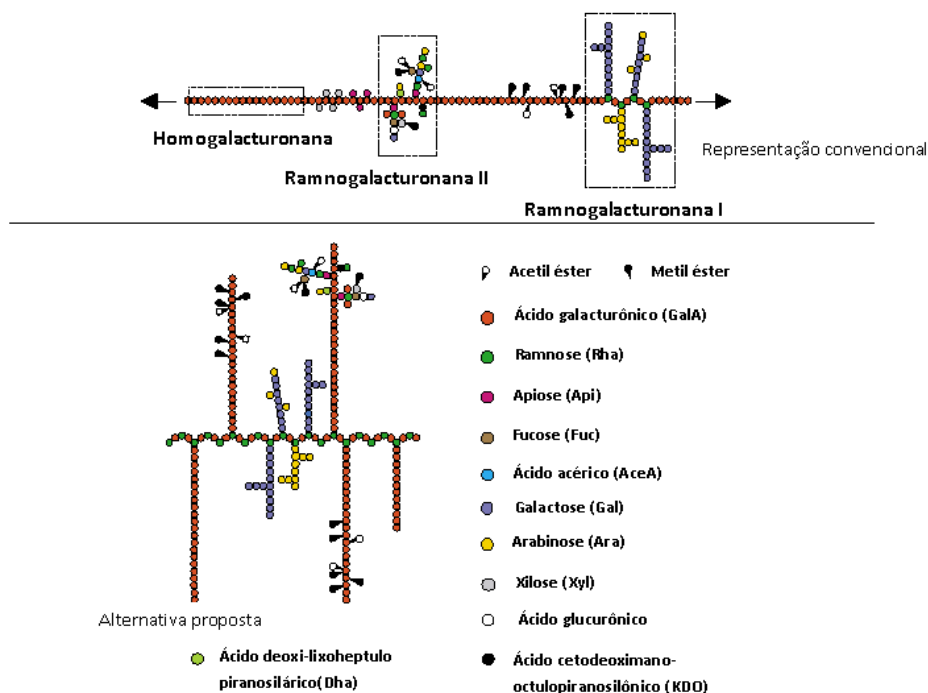


FIGURA 9-ALTERNATIVA PROPOSTA PARA CADEIA PÉCTICA.
FONTE: WILLATS; KNOX; MIKKELSEN, 2006.

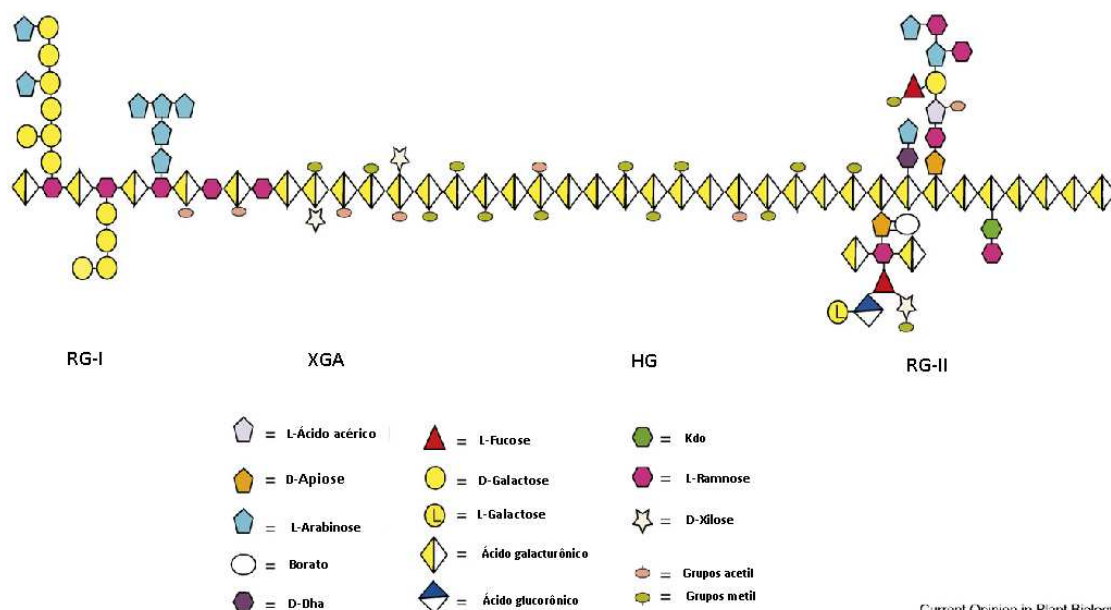


FIGURA 10-MODELO PROPOSTO PARA CADEIA PÉCTICA

FONTE: MOHNEN, 2008.

A estrutura de Mohnen (2008) indica os símbolos utilizados para representação de monossacarídeos pela comunidade científica internacional, embora não seja completamente fiel à realidade, estando a cadeia de homogalacturonana aumentada 12,5 vezes e RGI aumentada 2,5 vezes (Figura 10).

3.4.4 Degradação da estrutura

Em dispersão, as substâncias pecticas podem degradar-se por dois mecanismos químicos principais, esquematizados em três tipos de reação na Figura 11.

O primeiro tipo deles é a desesterificação, com liberação de metanol e formação de pectatos. Em meio ácido (pH entre 1 a 3), em temperaturas inferiores a 10 °C, predominam as desesterificações. O outro mecanismo, denominado de despolimerização (diminuição do tamanho da cadeia polimérica) pode acontecer por hidrólise (ácida ou enzimática) das ligações $\alpha(1\rightarrow4)$, ou ainda por reações de β -eliminação. Em temperaturas acima de 10 °C em meio ácido, são mais frequentes as hidrólises de ligações $\alpha(1\rightarrow4)$ (THIBAULT; PETIT, 1979).

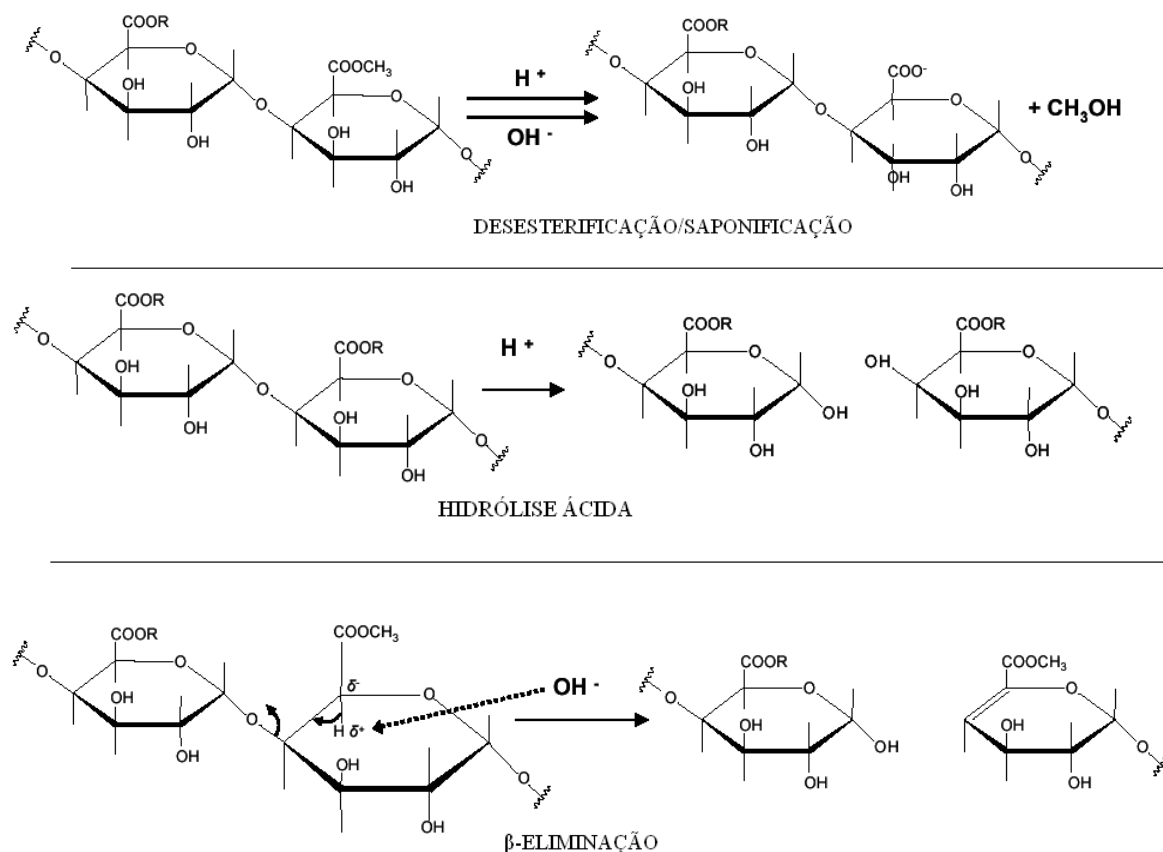


FIGURA 11-PRINCIPAIS MODIFICAÇÕES NAS SUBSTÂNCIAS PÉCTICAS POR EFEITO DE TEMPERATURA.

FONTE: COLIN-HENRION, 2008.

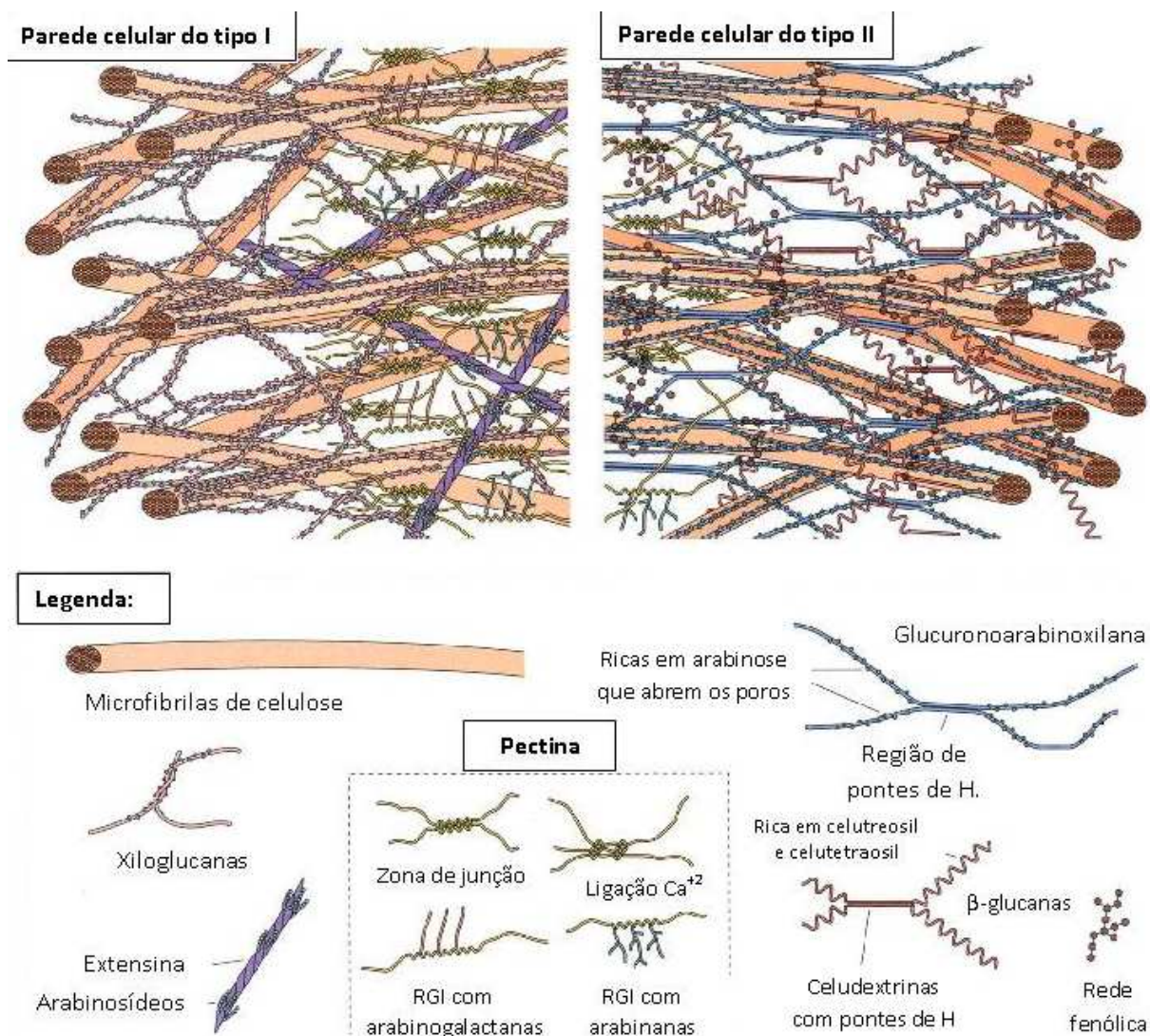
Na β - eliminação, o hidrogênio em C₅, mais ácido em função do grupo éster metílico é atacado pelo íon hidróxido, resultando na transferência eletrônica levando à ruptura da ligação glicosídica e formação, entre C₄ e C₅ de dupla ligação conjugada com aquela da função carboxílica. Essa reação pode ser acelerada pelo aumento da concentração de álcali e da temperatura ou na presença de íons tais como Ca⁺⁺, Mg⁺⁺, K⁺, Cl⁻, citrato, malato ou fitato. Abaixo de 10 °C, o grau de metilação das pectinas foi suficientemente reduzido para impedir, por repulsão eletrostática, a aproximação dos íons hidróxidos e essa reação não mais ocorre (THIBAUT *et al.*, 1991).

As substâncias pécticas são degradadas igualmente por enzimas sintetizadas por vegetais ou por microrganismos. Nesse caso, a degradação pode seguir duas vias principais: demetilação preliminar pela pectina-esterase, seguida da hidrólise ácida das ligações α (1 \rightarrow 4) pelas poligalacturonases; despolimerização direta das

pectinas por reações também de β -eliminação sob ação das pectinas liases e pectato liases de origem microbiana (THIBAUT; PETIT, 1979).

3.4.5 Localização das substâncias pécicas

Na Figura 12, estão esquematizados os dois tipos de parede celular primária.



Parede celular do Tipo I (à esquerda): interações entre celulose, xiloglucanas e pectinas. Parede celular do tipo II (à direita): interação entre celulose, glucuronoarabinoxilanas, pectinas e compostos fenólicos.

FIGURA 12-TIPOS DE PAREDE CELULAR PRIMÁRIA
FONTE: CARPITA; MC CANN (2000)

A parede celular, um compartimento dinâmico dos vegetais, pode ser dividida em duas camadas denominadas de primária e secundária. A parede celular primária pode ser classificada em: [1] tipo I, composta principalmente de celulose,

xiloglucanas, pectina e extensina, presente nas dicotiledôneas em geral e algumas monocotiledôneas (não-comelinóides) e [2] tipo II, compreendendo essencialmente celulose, glucoarabinoxilanas e compostos fenólicos, com menor proporção de pectina, encontrada nas *Poaceae*s e na maior parte das monocotiledôneas. A matriz de pectina controla, entre outras propriedades, a porosidade (CARPITA; MC CANN, 2000).

A lamela média é formada por moléculas de pectina unidas, através de ligações cruzadas, com camadas de cadeias de homogalacturonana depositadas subsequentemente em pectinas de células opostas (VINCKEN *et al.*, 2008).

3.4.6 Produção industrial de pectina

A produção de um extrato líquido de pectina foi registrada em 1908 na Alemanha e o processo propagou-se rapidamente pelos Estados Unidos, onde uma patente clássica foi obtida por Douglas (US Patente n. 1.082,682 de 1913) (IPPA, 2006). A produção de pectina desenvolveu-se aos poucos, no início do século XX, na Europa e nos Estados Unidos, usando principalmente o bagaço de maçã. A primeira fábrica de pectina cítrica foi construída em 1926, na Califórnia (KERTESZ, 1951).

A produção industrial de pectina cítrica brasileira teve início no ano de 1954, na cidade de Limeira (SP), idealizada por um italiano, na empresa Citropectina. Essa mesma indústria alterou o nome para Braspectina, em 1985, passou a Citrus Colloids S/A, em 1993 e, quando adquirida pelo grupo Hércules, em 1998, foi denominada CPKelco (RIBEIRO, 2002), sendo a única fábrica de pectina no País e maior produtora mundial de pectina cítrica (ACIL, 2010).

Na maioria dos países em vias de desenvolvimento, a pectina é importada. A produção regionalizada por pequenos processadores poderia suprir a demanda com custo mais baixo, desde que existisse incentivo governamental. Entretanto, existem algumas barreiras a serem superadas, como o custo, a dificuldade para isolamento da pectina sob a forma de pó em pequena escala e a obtenção de uma gama de pectinas com propriedades específicas, recomendadas para diferentes aplicações e não apenas de um tipo de produto. A produção de pectina está colocalizada às operações de processamento de ao menos 30 mil toneladas por ano de frutas para produção de suco. Em escala mundial, poucos fabricantes detêm o comércio global.

Curiosamente, toda pectina utilizada nos EUA é importada, principalmente da Europa e das Américas Central e do Sul (BATES; MORRIS; CRANDAL, 2001; ITDG, 2006).

A pectina comercial em pó pode ser classificada como de alta metoxilação (HM ou AM), com percentual de grupamentos esterificados na cadeia (grau de esterificação ou DE) superior a 50%-na prática entre 50 e 75%, ou de baixa metoxilação (LM ou BM), com DE inferior a 50%- na prática entre 20 e 45% (SRIAMORNSAK, 2003; OFST, 2005; WILLATS; KNOX; MIKKELSEN, 2006).

As principais indústrias mundiais produtoras de pectina na atualidade são Cpkelco, Danisco, Degussa, Herbestreith & Fox, Obipectin e Pektowin Jaslo (CYBERCOLLOIDS, 2006). O consumo mundial de pectina, em 1987, foi de seis mil toneladas por ano para pectina de baixa metoxilação (LM) e oito mil para de alta metoxilação (HM). Os preços variavam entre 7,92-8,80 dólares/kg para LM e 11,00-13,20 dólares/kg para HM, gerando um movimento de 22 milhões de dólares por ano (YALPANI; SANDFORD, 1987). O valor atual (fevereiro de 2010) de venda de um quilograma de pectina cítrica de alta metoxilação no Brasil está em torno de R\$ 118,00 (cento e dezoito reais), aproximadamente \$ 63.00 (sessenta e três dólares), numa valorização de mais de 500% em cerca de vinte anos (QUIMIBRAS, 2010).

Embora a extração de pectina varie de acordo com a matéria-prima, em linhas gerais, o processo compreende: [1] extração do vegetal de origem em pH ácido e meio aquoso; [2] purificação desse líquido extraído; [3] isolamento da pectina extraída do líquido (CHRISTENSEN, 1986).

A maior parte da pectina solúvel em água permanece no suco e a remanescente nessas fontes é principalmente insolúvel. A extração desta fração menos solúvel envolve processos físicos e químicos, sendo acompanhada por inevitável e não controlada remoção de açúcares neutros da cadeia lateral, hidrólise de ligações ésteres (VORAGEN *et al.*, 1995). Durante a extração, a protopectina é transformada em pectina solúvel na fase inicial e essas cadeias são degradadas em unidades menores posteriormente (PÁGAN; IBARZ, 1999).

A extração em meio ácido a quente é o método utilizado industrialmente para extração de pectinas a partir de resíduos industriais de sucos de frutas (THIBAULT *et al.*, 1991). Diferentes ácidos podem ser utilizados na extração. Em alguns países, os ácidos minerais são proibidos, sendo substituídos por cítrico, láctico

ou tartárico (SAKAI *et al.*, 1993). As condições do processo variam, mas via de regra um pH na faixa de 1,5-3,0 é utilizado por 0,5-6,0 horas numa faixa de temperatura de 60-100 °C. A razão sólido-líquido é geralmente 1:18, sendo cerca de 1:15 para o bagaço de maçã e 1:35 para o bagaço cítrico, ambos desidratados (SAKAI *et al.*,1993; VORAGEN *et al.*,1995).

Pectinas com rápida geleificação, com grau de metoxilação maior que 70% (DM>70%), são tipicamente extraídas em pH 2,5 e 100° C por 45 minutos. Pectinas com velocidade média ou lenta de geleificação (DM 60-70%) são extraídas em temperaturas mais baixas por períodos mais longos de tempo (por exemplo, 60 °C, 4h), visto que em baixas temperaturas o procedimento de desesterificação é mais rápido que a depolimerização. O extrato obtido tipicamente contém entre 0,3 e 0,5 % de pectina (VORAGEN *et al.*,1995).

Industrialmente, a pectina extraída é separada do bagaço utilizando prensas hidráulicas e/ou centrifugação. Algumas vezes, ocorre gelatinização do amido e é necessário tratamento enzimático preliminar com amilases. Subsequentemente o extrato é filtrado e, finalmente, concentrado. Na preparação de pectinas em pó, o extrato líquido concentrado é tratado com solventes orgânicos ou certos sais metálicos para precipitar os polímeros (SAKAI *et al.*,1993).

A pectina precipita em concentrações de etanol mais elevadas que 45% (m/v). Metanol, etanol e 2-propanol podem ser usados (VORAGEN *et al.*,1995). O abaixamento da constante dielétrica do meio explica a precipitação dos polímeros eletricamente carregados em meio levemente acidulado (CANTERI-SCHEMIN, 2003).

Para minimizar o volume de álcool, o extrato clarificado pode ser concentrado em evaporadores multiestágio até 3-4% de teor de pectina. O precipitado obtido pela adição de etanol é lavado posteriormente para remover contaminantes na forma de metais pesados, resíduos de agrotóxicos, ácidos, açúcares, compostos fenólicos, pigmentos e outros materiais insolúveis em álcool (VORAGEN *et al.*,1995). A pectina precipitada é coletada, seca e moída (SAKAI *et al.*,1993).

De uma forma geral, no armazenamento, mesmo pulverizadas, as pectinas sofrem algumas despolimerizações e desmetilações, num processo de auto-

hidrólise, mesmo na forma pulverizada, ainda mais se a pectina estiver na forma ácida e a taxa de umidade acima de 5%. O pH de estabilidade se situa entre 3,5 e 4,5 (THIBAULT *et al.*,1991).

Devido às variações nas matérias-primas há grandes diferenças no poder geleificante de preparações de pectina (VORAGEN *et al.*,1995). As pectinas comerciais são produtos padronizados, com sacarose, glucose ou lactose até grau de geleificação de 150 °US SAG, para assegurar ao usuário a mesma força de gel (SAKAI *et al.*,1993; VORAGEN *et al.*,1995). A padronização pode modificar a estrutura química das pectinas, promovendo a saponificação parcial de ésteres ou a amidação de grupamentos ácidos (SAKAI *et al.*,1993).

3.5 AVALIAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS PÉCTICAS

A dificuldade de estudo das moléculas pécticas está relacionada a três fatores principais relacionados à sua natureza: [1] caráter polimérico e presença de cargas elétricas, que influenciam a solubilidade, a degradação química, o comportamento hidrodinâmico em dispersão e iônico na cromatografia; [2] estrutura polissacarídica heteropolimérica, comportando uma gama variada de unidades estruturais, com diferentes substituintes, formas, anomerias e tipos de ligação, o que dificulta sua análise estrutural; [3] problemas ligados à extração, associados à insolubilização dos polissacarídeos pelo tratamento para inativação enzimática e aos agentes de extração e protocolos de obtenção com pectinas de diferentes características (THIBAULT *et al.*,1991).

Um conhecimento detalhado da estrutura da pectina e de suas propriedades é necessário para assegurar um produto adequado a cada processo (ITDG, 2006). O estudo das substâncias pécticas surge como importante ferramenta para implementação de melhorias no processamento de frutas (LEGENTIL *et al.*,1995). Entretanto, a determinação do conteúdo de pectina em alimentos mostra algumas dificuldades inerentes à estrutura das moléculas pécticas e interferências causadas por outros carboidratos nas amostras, sejam ácidos ou não (IBARZ *et al.*, 2006).

Para a elucidação completa da estrutura molecular de um polisacarídeo é preciso determinar as seguintes características com relação às unidades

monossacarídicas constituintes: espécie, configuração D ou L, número por molécula, forma do anel, sequência nas cadeias, bem como posição e configuração anomérica das ligações glicosídicas entre eles (PAZUR, 1994). Todavia, para fins de aplicação tecnológica, esse grau de detalhamento não se faz necessário; há algumas técnicas analíticas usuais para caracterização qualitativa e quantitativa das substâncias pécicas, comentadas a seguir.

3.5.1 Perfil monossacarídico

Os monossacarídeos, obtidos a partir da hidrólise das ligações glicosídicas por ácidos fortes, podem ser quimicamente reduzidos com borohidreto e acetilados com anidrido acético, resultando em acetatos de alditol. Essas substâncias são voláteis em diferentes temperaturas e podem ser separadas pela cromatografia líquido/gás (GLC), utilizando uma coluna capilar adequada. Os derivados voláteis são arrastados através da coluna por um gás inerte para um detector. Com a utilização de gradiente de temperatura, os açúcares irão eluir em diferentes tempos e, a partir da comparação com o comportamento de padrões tratados similarmente, pode-se determinar a razão molar de cada açúcar na amostra original (CARPITA; McCANN, 2000).

Para determinação de açúcares neutros, a cromatografia a gás é preferível à líquida de alta pressão, devido a uma série de fatores. Além da sensibilidade, permitindo a análise de quantidades menores que nanomols de carboidratos, mostra-se menos susceptível a interferências, como de sais ou proteínas (CHAPLIN, 1994). Pelo contrário, o HPLC apresenta a vantagem de permitir a quantificação dos ácidos urônicos juntamente com os açúcares neutros, se adicionada uma etapa de purificação para eliminação de contaminantes (LEITÃO *et al.*, 1995).

O método mais usual para determinação de ácidos urônicos era a reação com carbazol, não específica para o ácido galacturônico. Posteriormente, o reativo foi substituído pelo meta-hidroxifenil, proposto em 1973 por Blumenkrantz e Asboe-Hansen. Esse método apresenta elevada sensibilidade e especificidade, com menor interferência por açúcares neutros como a glucose, a galactose, a xilose, a arabinose, a ramnose, a frutose ou componentes fenólicos (DONER, 1986; IBARZ *et al.*, 2006). A utilização de um tubo em branco para cada amostra analisada é uma

das maneiras de se diminuir a interferência de cor promovida pela hidrólise de outros componentes, sendo o valor corrigido pela diferença da coloração da reação pela adição do reativo e da coloração resultante da hidrólise (INRA, 2009b). Entretanto, para eliminar o escurecimento ocasionado na presença de açúcares neutros, há um método proposto com adição de quantidades mínimas de sulfamato, sem significativa redução da sensibilidade na detecção de ácidos urônicos (FILISSETTI-COZZI; CARPITA, 1991).

3.5.2 Conteúdo em metoxilas e esterificação

Em todas as pectinas naturais, parte dos grupos carboxilas da cadeia principal de ácido galacturônico está esterificada, sendo os substituintes mais comuns os grupos metila (SRIAMORNSAK, 2003). Essa substituição é expressa como grau de esterificação (DE) ou grau de metilação (DM).

Embora na prática sejam utilizados de forma indistinta, o DM corresponde ao percentual do total de resíduos de ácido galacturônico esterificados apenas com grupo metoxila (HUISMANN; OOSTERVELD; SCHOLS, 2004), enquanto o DE, à razão dos grupamentos esterificados de ácido D-galacturônico pelo total de grupamentos de ácido galacturônico. O DE inclui outros grupos capazes de promover a esterificação além dos grupos metila, como os grupos acetila (SRIAMORNSAK, 2003).

O valor global de esterificação é um importante fator de influência sobre a geleificação, associado com outras variáveis interdependentes, como a massa molar, heterogeneidade, pH, grau de amidação, presença de açúcares e outros solutos (BEMILLER, 1986; WILLATS; KNOX; MIKKELSEN, 2006).

O percentual de grupos esterificados (DM ou DE) é mais comumente determinado por titulação (BOCHEK *et al.*, 2001) ou ligação com cobre também usado para análise do teor de ácido galacturônico. Também têm sido utilizadas as espectroscopias de infra-vermelho-FTIR (CERNÁ *et al.*, 2003; SYNITSYA *et al.*, 2003, MONSOOR, 2005) e ressonância magnética nuclear (RENARD; JARVIS, 1999). Outra maneira de calcular é a partir dos conteúdos de grupamentos metoxil e ácido galacturônico. O metanol pode ser determinado colorimetricamente, por cromatografia a gás (GLC), como metil nitrito, por pirólise acoplada à GLC ou à

espectrometria de massa (VORAGEN *et al.*, 1995) e por cromatografia líquida de alta pressão (HPLC) (LEVIGNE *et al.*, 2002).

3.5.3 Propriedades reológicas

A ciência que estuda como a matéria se deforma ou escoar, quando está submetida a esforços originados por forças externas, denomina-se reologia. A viscosimetria consiste no segmento da mecânica dos fluidos capaz de determinar sua resposta reológica. A resistência de um fluido contra qualquer mudança posicional de seu elemento volumétrico é responsável pela grandeza física conhecida por viscosidade (MACHADO, 2002).

Para definir a viscosidade matematicamente, Issac Newton utilizou o modelo de duas placas de áreas A , separadas por uma distância h , movimentadas através da aplicação de uma força F (Figura 13). A força (F) requerida por unidade de área (A) para manter uma diferença de velocidade entre as placas (dv/dx) é diretamente proporcional ao gradiente de velocidade através do líquido. Assim, o coeficiente de proporcionalidade é igual à viscosidade (η). A força por unidade de área é conhecida como tensão de cisalhamento (σ) e o gradiente de velocidade é conhecido como taxa de cisalhamento ($\dot{\gamma}$) (FERREIRA *et al.*, 1999).

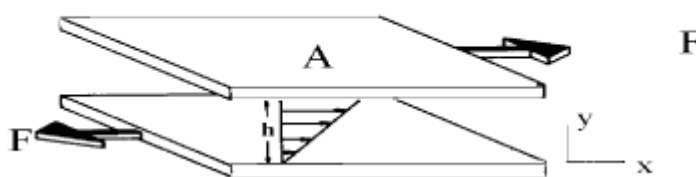


FIGURA 13-MODELO DE PLACAS PARALELAS PARA EXPLICAR A VISCOSIDADE DE UM LÍQUIDO POR NEWTON

FONTE: FERREIRA *et al.*, 1999.

De uma maneira abrangente, os fluidos podem ser classificados reologicamente em Newtonianos e não-Newtonianos. Comportam-se como fluidos Newtonianos, os gases e os sistemas monofásicos e homogêneos. Nos fluidos Newtonianos, há proporcionalidade entre tensão cisalhante e a taxa de cisalhamento

e uma única determinação experimental é suficiente para definir o único parâmetro reológico (MACHADO, 2002).

Os fluidos não-Newtonianos não apresentam uma relação linear entre a tensão cisalhante e a taxa de cisalhamento e, devido às interações entre seus componentes, os valores obtidos são considerados como viscosidade aparente. Os fluidos não-Newtonianos independentes do tempo podem ser classificados como: [1] pseudoplásticos, nos quais os valores de viscosidade aparente diminuem com o aumento da taxa de cisalhamento; [2] dilatantes, quando a viscosidade aparente aumenta com aumento da taxa de cisalhamento e [3] plásticos de Bingham, que necessitam de uma tensão finita inicial para que ocorra movimento das partículas. Há ainda fluidos com comportamentos reológicos dependentes do tempo: tixotrópico e o reopético (FERREIRA *et al.*, 1999).

As pectinas em soluções diluídas apresentam comportamento de fluidos Newtonianos, mas, em concentrações moderadas, exibem comportamento não-Newtoniano (SRIAMORNSAK, 2003), resultando, nesse caso, em medidas de viscosidade aparente (HAND *et al.*, 1955). Em geral, as pectinas, longas cadeias macromoleculares, mostram comportamento pseudoplástico, independente do seu grau de metoxilação. Assim, o decréscimo da viscosidade com o aumento da taxa de cisalhamento torna-se mais importante quando a concentração do polímero e a massa molar aumentam. Para baixas concentrações, a viscosidade é intimamente independente da tensão de cisalhamento. O desenvolvimento de novas determinações reológicas ampliou as possibilidades de caracterização da pectina em soluções e géis. Essas fornecem dados importantes como o fluxo do processo tecnológico para controle de qualidade ou padronização de produtos e a determinação de dados específicos para cada pectina, na pesquisa e no desenvolvimento de produto (H&F, 2008).

Soluções de macromoléculas, como a pectina, são misturas homogêneas consideradas coloides, visto que a dimensão das macromoléculas está no intervalo de tamanho coloidal, entre 1 a 1000 nanômetros ($1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m}$). Os coloides são misturas de pelo menos duas fases diferentes, com a matéria de uma das fases na forma finamente dividida (sólido, líquido ou gás), denominada fase dispersa, misturada com a fase contínua (sólido, líquido ou gás), denominada meio de dispersão (JAFELICCI JR; VARANDA, 1999).

Numa dispersão de macromoléculas ou de polímeros, as longas cadeias se interligam, emaranham-se e enovelam-se, produzindo interações físicas e químicas, formando uma grande rede tridimensional. Sob esforços cisalhantes, inicialmente o fluido mostrará uma resistência similar a de um sólido, sendo deformado dentro dos limites dessa rede. A seguir, os segmentos conectados se esticarão elasticamente e finalmente as moléculas começarão a se desemaranhar, orientar-se e escoar irreversivelmente na direção da força cisalhante. Isso torna a resposta viscosa e elástica compreensível, introduzindo um conceito de tempo de resposta, dependente, inicialmente, mais da elasticidade do que da viscosidade (MACHADO, 2002).

Os experimentos viscosimétricos mostram a existência de uma relação entre tamanho molar e viscosidade de soluções coloidais ou macromoleculares, o que torna possível determinar sua massa molar. Os experimentos podem ser realizados rapidamente e requerem equipamentos simples, mas não é absoluto, visto que a viscosidade depende de uma série de outras propriedades moleculares além da massa. A concentração das soluções não deve ser muito alta, de modo que a razão entre a viscosidade da solução polimérica e do solvente puro recaia numa faixa de 1,1 a 1,5 (CANEVAROLO JR, 2002).

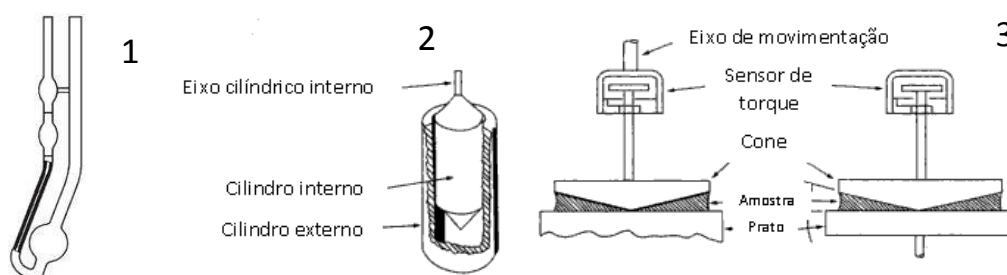
Os polímeros modificam a reologia em virtude de sua elevada massa molar, entrelaçamentos na cadeia polimérica e interação do polímero com o solvente. Sua influência na reologia resulta do grande volume das macromoléculas em solução, comparadas ao total das dimensões moleculares das unidades básicas constituintes. O volume da solução ocupado por um polímero é denominado volume hidrodinâmico, o qual é determinado por seus parâmetros estruturais (como o comprimento e rigidez da cadeia) e interações com o solvente, bem como associações ou repulsão poliméricas. O volume hidrodinâmico é dependente da temperatura, concentração, massa molar e taxa de deformação (GLASS; SCHULZ; ZULOSKI, 1991).

A melhor representação da morfologia de uma partícula polimérica é a de um “novelo aleatório”. Quanto maior a interação entre os segmentos do polímero e das moléculas do solvente, tanto maior será o novelo polimérico. A viscosidade está diretamente relacionada ao volume hidrodinâmico da partícula, dependendo da massa molar e dessa interação. Outra variação estrutural que os polímeros podem assumir é a ramificação. As relações usuais dos parâmetros viscosimétricos e a

estrutura da partícula para o polímero disperso só são válidas para polímeros lineares ou com pequenas ramificações. A ramificação aumenta a densidade do novelo polimérico, sendo que um polímero ramificado ocupa um volume menor do que linear de mesmo tamanho e consequentemente apresenta uma viscosidade intrínseca menor (PINTO, 2010).

Os instrumentos para medida da viscosidade trabalham em ao menos um dos três princípios físicos: a taxa do escoamento do líquido através de um tubo, a taxa da queda de um corpo em um meio líquido e a força de fricção exercida por um corpo em rotação (MORRIS, 2001). Detalhados a seguir, podem ser encontrados os viscosímetros utilizados neste trabalho (Figura 14).

O viscosímetro capilar utiliza como princípio o escoamento de um fluido através de um tubo capilar (em U), constituindo a base para os viscosímetros tipo Oswald-Cannon-Fenske ou Ubbelohde, com registro do tempo para que um líquido percorra num reservatório o espaço entre duas marcas gravadas. Uma constante considera a variação de diâmetro interno do tubo e sua uniformidade, as condições de entrada e regime transitório que ocorre devido à variação de nível durante o teste. A determinação consiste na medida do tempo de fluxo de um volume fixo de líquido, sob a ação da gravidade, através de um capilar com carga hidrostática média reproduzível a uma temperatura estreitamente controlada. Em função de o tempo estar na dependência tanto da densidade como da viscosidade, esses equipamentos proporcionam uma determinação direta da viscosidade cinemática. Tempos entre 100 e 500 segundos oferecem uma relação razoável entre velocidade e precisão (STREETER; WYLIE, 1982; LEWIS, 1993). Este viscosímetro é adequado para medidas de líquidos Newtonianos de baixa viscosidade (KIM; LIPTÁK, 2003).



1. VISCOSÍMETRO CAPILAR; 2. VISCOSÍMETRO CILÍNDRICO-COAXIAL; 3. VISCOSÍMETRO CONE-PLACA
FIGURA 14-MODELOS DE VISCOSÍMETROS.

FONTE: KIM; LIPTÁK, 2003.

Os géis de pectina são comumente vistos como sistemas híbridos de duas fases, com alto grau de interface entre o sistema contínuo, sob a forma de rede tridimensional com longas cadeias de ácidos pectínicos e a fase aquosa aprisionada, igualmente contínua ou finamente dispersa. Em certos casos, especialmente nas pectinas de beterraba, as funções acetilas reduzem fortemente o poder geleificante, sendo que 2,6% de acetilas reduziram quase que completamente essa característica. Pelo contrário, o ácido péctico fortemente acetilado pode mostrar uma aptidão à geleificação em meio ácido açucarado. Assim, a geleificação, prejudicada por quantidades relativamente fracas de grupos acetilas, torna-se novamente possível quando uma forte acetilação recria uma nova superfície hidrofóbica de grupos acetilas (BONDU, 1986).

A presença de amido e proteína pode contribuir para o aumento da viscosidade em frações pécticas analisadas (IAGHER; REICHER; GANTER, 2002). Em numerosos casos, uma estreita relação foi observada entre o poder geleificante e o grau de polimerização, bem como a viscosidade intrínseca. Certos fatores alteram a relação entre a massa molar e o poder geleificante, como a presença de cadeiais ou grupos laterais, que ocultam os grupos funcionais necessários para a geleificação (BONDU, 1986).

O padrão de distribuição das cadeias laterais influencia a geleificação das pectinas. Isso foi demonstrado em uma pesquisa na qual uma série de pectinas foi produzida por desesterificação de uma amostra HM, com o uso de três tratamentos: dois enzimáticos, por pectinametilesterases (PME) nativa cítrica e fúngica-produzida por *Aspergillus niger*- e um químico, por álcali. As PME fúngicas produzem cadeias derivadas de homogalacturonanas (HG) com arranjo disperso de metil-ésteres ao longo da cadeia. Em contraste, PME de vegetais usualmente tem um padrão de ação em blocos, produzindo longas fitas de HG não-esterificadas. O tratamento com álcali produz uma distribuição aleatória de metil-ésteres. O efeito crítico desses diferentes padrões de distribuição foi mostrado pelo teste de compressão de géis de pectina de limão com cálcio. Dois géis com DE similares e distribuição diferente dos grupamentos esterificados foram produzidos e comprimidos nas mesmas condições. Os géis com pectina hidrolisada por PME vegetal resultaram falhos devido a quebras, embora não visíveis, que corriam verticalmente através do gel. Em

contraste, os géis de pectina hidrolisada por PME fúngica deformaram com padrão mais plástico (WILLATS; KNOX; MIKKELSEN, 2006).

3.5.4 Massa molar

A massa molar das pectinas pode ser variável de acordo com a fonte vegetal, matéria-prima e condições de extração, mas sua determinação é um desafio devido aos problemas de heterogeneidade e agregação, além da usual larga distribuição (SAKAI *et al.*, 1993; VORAGEN *et al.*, 1995). Comparativamente, os valores de massa molar de pectinas são notadamente menos elevados que da celulose ou do amido. Os valores citados na literatura variam entre 20.000 g mol⁻¹ a 360.000 g mol⁻¹ e as amostras comerciais entre 35.000 g mol⁻¹ a 120.000 g mol⁻¹, segundo o tipo de pectinas. Em função da polimolecularidade das substâncias pecticas, os valores médios podem diferir até de um fator de 10. Além dos fatores já citados, essa importante variação pode ser explicada pela utilização de métodos diferentes de extração ou determinação da massa molar (THIBAUT, 1980).

Historicamente, o tamanho das moléculas de pectina era calculado por sedimentação e constante de difusão. A determinação da viscosidade tem sido usada mais frequentemente para determinar a massa molar. Entretanto, deve-se considerar que a viscosidade de uma solução de ácidos pectínicos depende de fatores como massa molar, concentração, grau de esterificação, pH e presença de eletrólitos (SAKAI *et al.*, 1993).

Em muitos casos, grandes discrepâncias são obtidas entre massa molar média e viscosidade, mesmo quando os experimentos são conduzidos com especial cuidado. Isso pode ser devido a: (a) polidispersão; (b) fenômeno de agregação, dependente do DE e concentração, que interfere na coleta dos dados por espalhamento de luz; (c) dificuldades experimentais durante a titulação dos grupamentos finais, especialmente para amostras com elevada massa molar (VORAGEN *et al.*, 1995). Os cálculos da forma e tamanho molecular a partir da viscosidade são válidos somente se a medida não for influenciada por cargas e efeitos de agregação. Sendo uma molécula com regiões de diferente polaridade, os efeitos de carga são consideráveis. Entretanto, o cloreto de sódio e outros sais reduzem isso permitindo que determinações de viscosidade sejam feitas, Em

dispersões diluídas a 0,1% a agregação é aparentemente não importante. A massa molar calculada a partir dos dados de viscosidade intrínseca é provavelmente imprecisa por vários fatores, possíveis de interferir na tensão superficial como hidratação, flexibilidade da molécula e heterogeneidade (OWENS *et al.*, 1946).

Dispersões poliméricas exibem um aumento linear na viscosidade com o aumento da massa molar. Para um polímero com massa molar fixa, a viscosidade é diretamente proporcional até que uma concentração crítica seja alcançada. Ambas as observações refletem o início das associações entre cadeias. A viscosidade intrínseca, a concentração e o tamanho da molécula estão intimamente relacionados (GLASS; SCHULZ; ZULOSKI, 1991).

Técnicas recentes utilizadas para determinar a massa molar média incluem espalhamento de luz laser e sedimentação a baixa velocidade. Não obstante, a distribuição da massa molar obtida é ainda dependente do método de remoção de espécies de alta massa molar em cada fração, que interfere nos resultados de espalhamento de luz, enquanto a viscosidade permanece relativamente não afetada (VORAGEN *et al.*, 1995).

A técnica de exclusão estérica em gel tornou-se um método popular para determinação do tamanho molecular bem como da homogeneidade. Por meio de polissacarídeos de tamanho molecular conhecido, utilizados como marcadores, a massa molar pode ser determinada. Um pico simétrico de eluição é indicativo de homogeneidade (PAZUR, 1994). Nessa cromatografia, uma dispersão com o polímero é carregada através de uma coluna recheada com um gel poroso, que permite a penetração de cadeias poliméricas e exclusão das cadeias maiores. As cadeias de massa molar menor são eluídas em atraso com relação às cadeias de massa molar mais elevada. A escolha correta do tamanho e da distribuição dos poros do gel possibilita uma separação contínua de massas molares da amostra polimérica (CANEVAROLO JR, 2002).

4. PERICARPO DO MARACUJÁ-AMARELO: MATÉRIA-PRIMA PARA PRODUÇÃO DE PECTINA

Artigo correspondente: *Physicochemical composition of the yellow passion fruit's pericarp fractions and respective pectic substances.*

4.1 MARACUJÁ-AMARELO

4.1.1 Panorama do mercado da fruta

Mais de quinhentos tipos de frutos comestíveis crescem em regiões tropicais e subtropicais, mas desses, menos de quinze são processados comercialmente (ASKAR, 1998). O maracujá está incluído na categoria comercial de frutas tropicais secundárias, cujo mercado aumentou rapidamente nos últimos anos, juntamente com a lichia, o durião, o rambutão e a goiaba. As frutas tropicais principais produzidas em escala global são a manga, o abacaxi, o mamão e o abacate, constituindo 75% da produção mundial (FAO, 2003).

De acordo com a FAO, uma base de dados sobre frutas tropicais é frequentemente não disponível em muitos países e os relatórios de cobertura apresentam falta de uniformidade (LINDEN, 2004). Assim, as estatísticas mundiais na produção de maracujá são ainda incompletas e inconsistentes. No Brasil, o maior produtor mundial de maracujá (LIMA *et al.*, 2006), a preferência pelo maracujá-amarelo é evidente nos Estados onde é cultivado (BERNACCI *et al.*, 2008). Segundo dados do IBGE (2009), a produção entre 2003 e 2007 foi em média de quinhentas e quarenta e sete mil toneladas (Tabela 3). Dentre as regiões produtoras, enquanto a região Nordeste dobrou a produção nos últimos quatro anos, a região Sudeste apresentou ligeira queda.

TABELA 3-PRODUÇÃO NACIONAL DE MARACUJÁ EM TONELADAS ENTRE OS ANOS DE 2003 E 2007 SEGUNDO AS REGIÕES DO BRASIL.

| Região | Ano | | | | |
|--------------|---------|---------|---------|---------|---------|
| | 2003 | 2004 | 2005 | 2006 | 2007 |
| Norte | 38.301 | 44.789 | 51.077 | 52.254 | 49.371 |
| Nordeste | 214.467 | 209.401 | 244.343 | 377.136 | 421.437 |
| Sudeste | 197.074 | 200.839 | 151.096 | 152.204 | 156.956 |
| Sul | 16.214 | 15.906 | 13.714 | 12.390 | 14.471 |
| Centro-Oeste | 19.286 | 20.684 | 19.583 | 21.212 | 22.051 |
| Brasil | 485.342 | 491.619 | 479.813 | 615.196 | 664.286 |

FONTE: IBGE, 2009.

A área de cultivo de maracujá no Brasil é de cerca de quarenta mil hectares. A região de Araguari no Estado de Minas Gerais, já em meados da década de 1990, era reconhecida mundialmente como importante polo de produção, com indústrias de processamento instaladas. A produção mundial passou de trezentas e vinte mil toneladas a quinhentos e sete mil toneladas entre os anos 1988 a 1995 (LOEILLET; GAYET, 1999). Posteriormente, houve uma ligeira queda na produção segundo as estatísticas, embora a média tenha permanecido acima de quinhentas mil toneladas, entre os anos de 2003 e 2007, pelos dados divulgados pelo IBGE (2009).

Quando comparado a outros frutos, a produção de maracujá mundial é minúscula. O mercado para os frutos frescos é quase inexistente nos Estados Unidos, embora essa tendência possa mudar com interesse dos consumidores por produtos exóticos. No Brasil, o maracujá fresco é imensamente popular e mesmo frente ao crescimento da produção interna, é necessária a importação para suprir a demanda (ITI TROPICALS; QUICORNAC, 2009). Entretanto, as exportações brasileiras de frutas frescas de maracujá são consideradas inexpressivas (TEIXEIRA, 2005).

Quanto ao produto industrializado, o comércio internacional consiste em dez a quinze mil toneladas do suco concentrado em 50 °Brix. Cerca de dez toneladas de fruta são necessárias para produzir uma tonelada de concentrado. A Europa é o principal importador, com cerca de 60 a 70% do produto exportado, contra 20 a 22% para os Estados Unidos (CIAT, 2006).

Atualmente, na América do Sul, o mercado ainda está em ascensão. O cultivo, iniciado em meados dos anos 1950, difundiu-se pela Colômbia e Venezuela e mais tarde pelo Equador, principal exportador do concentrado de maracujá (ITI TROPICALS; QUICORNAC, 2009).

A produção mundial de suco de maracujá teve aumento significativo a partir da segunda metade do século XX. Nos anos 1940, Harold Cottes utilizou maracujás na Austrália como matéria-prima para produção de doces em pasta e conservas, associada ao lançamento de bebida sem álcool. Nos anos 1950, na Grã-Bretanha, surgiu uma bebida carbonatada de maracujá e nos anos 1960, a Unilever lançou um preparado de laranja e maracujá com êxito (HOOPER, 1995).

Mundialmente, o suco de maracujá apresenta desempenho bastante irregular de exportação em função de oportunidades temporárias no mercado internacional. Embora exista o potencial para exportação de frutas nativas, as

empresas brasileiras encontram dificuldades para inserção da produção no mercado externo, em função de dificuldades inerentes às estratégias comerciais e às barreiras culturais, estando o consumo dessas frutas geralmente associado aos nichos compostos por imigrantes ou consumidores estrangeiros do mercado naturalista (ESPERANCINI, 2005).

O Brasil é o maior exportador de suco de maracujá do mundo, com domínio do mercado internacional por muitos anos. Os principais produtores mundiais de suco e polpa são Brasil, Colômbia, Peru, Equador, Venezuela, Costa Rica, Quênia e Sri Lanka. Entretanto, é necessária a conquista do mercado europeu, visto que a União Européia importa a variedade maracujá roxo, diferente da variedade plantada com fins comerciais no Brasil (TEIXEIRA, 2005).

4.1.2 Características da matéria-prima

Com mais de seiscentas espécies, o gênero Passiflora é o mais importante da família Passifloraceae, com distribuição pantropical e incluindo cerca de vinte gêneros. No Brasil, ocorrem cinco gêneros e cento e vinte espécies. Passiflora edulis é uma das poucas espécies cultivadas, junto a outras com potencial ornamental e alimentício (SOUZA; LORENZI, 2005).

O nome maracujá, uma expressão na língua indígena, significa “a comida que vem na cuia” (SILVA, 1993), em função da semelhança com o vaso feito com o fruto da cuieira depois de vazio (FIGURA 15).



FIGURA 15-FRUTOS e FLOR DE MARACUJÁ-AMARELO (Passiflora edulis f. flavicarpa).

FONTE: SILVA, 2006.

Em nível mundial, apenas duas variedades de maracujá são exploradas comercialmente. A primeira é o maracujá-roxo (*Passiflora edulis* f. *edulis*), cultivado na Índia, Austrália, Sri Lanka, África do Sul e Nova Zelândia. O maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*), também conhecido pelos nomes maracujá-azedo, maracujá-peroba, maracujá-mirim e maracujá-do-norte (CABRAL; FREIRE JÚNIOR; DA MATTA, 2005), pode ser resultado de uma mutação do maracujá-roxo. É encontrado no Brasil, Havaí, Quênia, Taiwan e Fiji (OLLÉ *et al.*, 2002; NARAIN, 2003) e demanda temperaturas elevadas (20 a 34 °C) e baixas altitudes para bom desenvolvimento (LOEILLET; GAYET, 1999). Taxonomicamente, em relação à espécie *edulis*, está indicado o uso do nome *Passiflora edulis* Sims para qualquer cor de fruto ou planta de maracujá azedo para evitar incoerências taxonômicas inerentes às particularidades entre espécies e cultivares (BERNACCI *et al.*, 2008).

No Brasil, a espécie *Passiflora alata* Dryander ou maracujá doce, nativa da América do Sul, é consumida *in natura* em função das características da polpa, menos ácida que outras espécies (VASCONCELLOS *et al.*, 2001).

Similarmente aos frutos cítricos, o pericarpo do maracujá (casca ou pele) é dividido em exocarpo ou flavedo e mesocarpo ou albedo. A película interna ao redor das sementes é o endocarpo ou arilo carnoso (Figura 16).

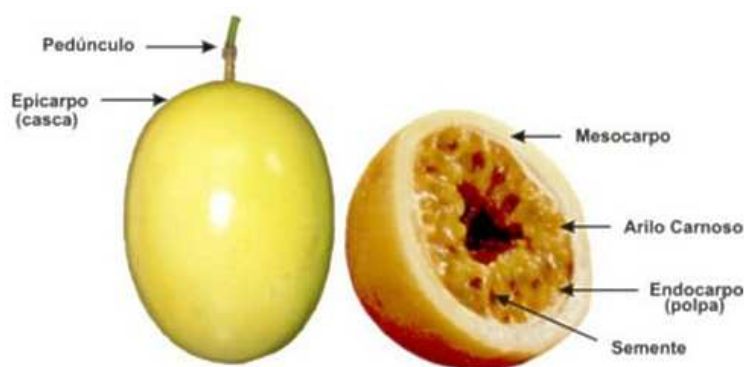


FIGURA 16-REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO PERICARPO DE MARACUJÁ-AMARELO E FRAÇÕES.

FONTE: FAEP, 2010.

A cor do mesocarpo do maracujá-amarelo é branca e/ou esverdeada, bem como do endocarpo. A superfície interna dos microfilamentos condutores em cada saco contém a semente negra coberta de seu arilo succulento (OLLÉ *et al.*, 2002). O fruto apresenta forma oval ou subglobosa, em média com 6 a 8 cm de comprimento

por 5 a 7 cm de largura e massa de 44 a 160 g. A variação do tamanho e da coloração da polpa é significativa (CABRAL; FREIRE JÚNIOR; DA MATTA, 2005).

4.1.3 Características do suco e dos resíduos

O maracujá-amarelo apresenta comparativamente a outras frutas um alto conteúdo de ácido ascórbico e carotenóides. Análises químicas em frutos de maracujá, com 75,8% de umidade, indicaram a seguinte composição química, expressa em mg.100g⁻¹: 24 de vitamina C; 0,6 de β -caroteno; 17 de cálcio; 57 de fósforo; 1,2 de ferro e 349 de potássio (ASKAR, 1998). Sua polpa é composta por cerca 84% de água; 0,67% de proteínas; 0,18% de lipídios; 14,45% de carboidratos e 0,17% de fibra. É um produto com elevada acidez, com pH variando de 2,6 a 3,4, sendo o ácido cítrico responsável por mais de 90% da acidez total, seguido pelo ácido málico. Em relação ao conteúdo vitamínico, mostra-se rico em vitamina A (2,4 U.I.%), niacina (2,2 mg%) e ácido ascórbico (18,2 mg%), apresentando ainda quantidade significativa dos minerais fósforo (25 mg%), cálcio (4 mg%) e ferro (0,36 mg%). O aroma global do suco do maracujá-amarelo fruta é derivado da interação entre mais de trezentos compostos voláteis identificados e quatro alcaloides (harmana, harmol, harmina e harmalina), com leves efeitos sedativos demonstrados por testes farmacológicos (CABRAL; FREIRE JÚNIOR; DA MATTA, 2005). Uma amostra de suco, originário da Bahia, apresentou cerca de 14 °Brix, indicativo de elevado teor de sólidos solúveis, com 3,1 de relação entre estes e acidez total titulável de 4,46% (MACHADO *et al.*, 2003). Grande diversidade de substâncias como a passiflorina (com efeito sedativo), ésteres, teaspirona, edulana, dehydroedulana e compostos sulfúricos importantes para o aroma foram encontradas no suco de frutos do gênero Passiflora. Em termos quantitativos, predominam o linalool, o benzaldeído, o ácido butírico, o ácido caproico etil esterificado e 1-hexanol. Outros componentes significantes são a ciclopentanona e o ciclopentanol e cerca de 1 mg% de betalaína (SEIDERMAN, 2002).

O pericarpo e as sementes são separados durante o processamento dos frutos para extração de grandes quantidades de suco. O suco de maracujá-amarelo é bastante popular no Brasil e os principais produtos produzidos a partir da fruta são o suco ou polpa integral congelado e o suco concentrado. Esses são utilizados como

matéria-prima para os demais produtos, tais como o suco integral conservado quimicamente, o pasteurizado e os produtos prontos para o consumo, como néctar e refresco (CABRAL; FREIRE JÚNIOR; DA MATTA, 2005).

No Brasil, existe forte competição entre os segmentos para consumo *in natura* e processamento, com 50% para cada (MIN, 2005), e a produção de suco produz elevadas quantidades de resíduos, ao redor de 65 a 75% (ASKAR; TREPTOW, 1997; OLIVEIRA *et al.*, 2002). Uma das empresas contatadas no Brasil, única a responder à enquete sobre industrialização de maracujá, produziu cento e sessenta e três toneladas de suco em 2006 e setenta e duas toneladas em 2007, com a safra do maracujá-amarelo destinado à industrialização entre os meses de dezembro a junho (ZANATTA, 2008).

Desde que elevadas quantidades (toneladas) de subprodutos são geradas durante o processamento do maracujá-amarelo, mostra-se de interesse econômico, científico e tecnológico encontrar uma utilização para tal resíduo (FERRARI; COLUSSI; AYUB, 2004). Na Costa do Marfim, cerca de 3×10^5 toneladas de casca de maracujá, provenientes da industrialização do suco, ainda permanecem sem aproveitamento, sendo descartadas como resíduo agro-industrial (YAPO; KOFFI, 2008b).

Segundo dados de CORDOVA *et al.* (2005), a casca de maracujá apresenta minerais (8,68 g/100g) sendo 28,4 mg/100g de cálcio; 1,5 mg/100g de ferro e 51,7 mg/100g de sódio. O elevado teor de umidade exige cuidados no armazenamento.

A Tabela 4 indica a composição aproximada da casca de maracujá determinada por alguns autores.

TABELA 4-COMPOSIÇÃO APROXIMADA DA CASCA DE MARACUJÁ

| Análises g/100g | Resíduos ¹ | Pericarpo | | | | |
|--------------------|-------------------------|-----------------------------|------------------------|-----------------------------|-------------------|---------------------|
| | | Sem exocarpo ^{2,3} | | Com exocarpo ^{3,4} | | Farelo ⁵ |
| Proteína | 1,0 (0,15) | 4,1 (0,61) | 5,6 (0,18) | 5,2 (0,23) | 1,5 (0,09) | 7,6 (0,14) |
| Lipídeo | 0,8 (0,13) | Menor que 0,1 | 0,5 (0,03) | 0,6 (0,05) | 0,8 (0,03) | 0,6 (0,07) |
| Fibra alimentar | 17,1 (0,79) | 57,3 ^a | 51,7 (0,07) | 64,8 (1,99) | 57,3 ^b | 64,1 (0,06) |
| Cinzas | 2,5 (1,16) | 7,5 (0,02) | 2,9 (0,30) | 3,4 (0,24) | 8,7 (0,09) | 6,2 (0,03) |
| Pectina extraída | n.d. | n.d. | 15,6-40,1 ^c | n.d. | n.d | n.d. |
| Carboidratos | 8,3 (0,10) ^d | 21,3 (0,44) | 51,7 (0,07) | 26,1 (2,05) | 56,0 (0,49) | 78,9 ^e |
| Umidade | 10,2 (0,15) | 9,9 (0,12) | 4,3 (0,15) | 4,7 (0,60) | 6,7 (0,02) | 6,7 (0,02) |

n.d.=não determinado ^asoma da fibra solúvel e fibra insolúvel ^b sem desvio-padrão, ^cdiversas condições de extração com ácido nítrico em processo de otimização; ^daçúcares totais; ^epor diferença incluindo fibra dietética; números entre parênteses correspondem aos desvios-padrão.

FONTE: ¹UCHOA *et al.*, 2008; ²PINHEIRO *et al.*, 2008; ³KLIEMANN, 2006; ⁴CÓRDOVA *et al.*, 2005, ⁵LEORO, 2007.

De acordo com a Tabela 4, a composição dos resíduos obtidos do processamento industrial para produção de polpa de fruta (UCHOA *et al.*, 2008) difere dos resíduos produzidos em bancada, caracterizados pelos demais autores. Nesses, a composição do pericarpo, com ou sem o exocarpo, produzido em bancada, mostrou baixo teor em lipídeos (menor que 1%) e elevado teor de fibra alimentar (acima de 50%). O teor de carboidratos foi o parâmetro com maior diferença entre os pericarpos avaliados e isso se justifica pela falta de padronização entre as metodologias aplicadas para estimá-los.

Dentre as características não descritas nessa Tabela, o pH de uma solução 100 g L⁻¹ do resíduo do processamento de maracujá-amarelo foi de 4,17 e o teor de sólidos solúveis foi de 20,56 °Brix. A vitamina C foi quantificada como 11,76 mg.100g⁻¹ (UCHOA *et al.*, 2008).

Embora o termo fibra solúvel seja cada vez menos usual, Leoro (2007) quantificou que a fração fibra alimentar do farelo do pericarpo, era constituída por aproximadamente 78% de fibra insolúvel e 22% de fibra solúvel em farelo de maracujá.

Yapo e Koffi (2008a) encontraram média de 73% de fibra dietética total, com 60% correspondente à fração insolúvel, em material insolúvel em álcool obtido a partir da casca do maracujá. Esses mesmos autores determinaram que a parede celular da casca do maracujá consiste de 80% de polissacarídeos não-amiláceos, dos quais 42% de celulose, 25% de substâncias pécticas e 12% de hemiceluloses (YAPO; KOFFI, 2008b)

Demais estudos sobre resíduos do maracujá-amarelo indicaram que o ácido linoleico predominou no óleo extraído do farelo das sementes de maracujá-amarelo. Esse farelo deslipidificado apresentou 15,62% de proteínas e teor de fibras de 58,98% (FERRARI; COLUSSI; AYUB, 2004).

Matsuura (2005) encontrou compostos cianogênicos no albedo de maracujá-amarelo, em concentração de 90,1 mg kg⁻¹ sendo 83,2 mg kg⁻¹, caracterizados como glicosídeos. Esse autor preconiza a eliminação dessas substâncias por imersão em salmoura e cozimento em água em ebulição sob pressão para o uso seguro desse resíduo. Adicionalmente, foi detectada a inibição da atividade da tripsina de 1,9 UTI.mg⁻¹ e um conteúdo de 3% de taninos.

4.1.4 Alternativas para utilização dos resíduos do maracujá-amarelo

Em função do elevado teor em fibras solúveis no pericarpo de maracujá, notadamente a pectina, o uso isolado desse resíduo na alimentação animal não seria recomendado, visto que o principal objetivo da ração na pecuária é promover ganho de peso em curto espaço de tempo. Há estudos indicando a aplicação da pectina na redução do peso corporal (H&F, 1998).

Como aplicação farmacológica, estudos *in vivo* sobre a ingestão de pericarpo de maracujá-amarelo em humanos indicam haver diminuição dos índices plasmáticos de glucose e lipoproteínas. Mulheres com altos níveis de colesterol tiveram redução estatística do colesterol total e fração LDL (RAMOS *et al.*, 2007), contudo, esses efeitos benéficos não foram observados em pacientes diabéticos do tipo II. Nestes, houve redução do colesterol e triglicerídeos e aumento da fração HDL depois do consumo da farinha da casca. Os níveis glicêmicos avaliados antes e depois do uso da casca do maracujá foram compatíveis com uma ação positiva no controle da glucose sanguínea (JANEBRO *et al.*, 2008).

As silagens constituídas integralmente por resíduos de maracujá, obtidos ainda frescos de uma indústria de suco em Minas Gerais, quando testadas como alimentação de carneiros não supriram as exigências dos animais enquanto consumo voluntário, não sendo aconselhadas como única fonte (REIS *et al.*, 2000). Trabalhos recentes incluem aditivos na silagem do maracujá-amarelo com o intuito de melhorar a qualidade nutricional ou fermentativa da silagem de maracujá (NEIVA JÚNIOR *et al.*, 2007a; NEIVA JÚNIOR *et al.*, 2007b).

O uso direto do pericarpo de maracujá-amarelo ou parte dele na alimentação humana também foi estudado. O albedo de maracujá-amarelo fresco foi utilizado para a produção de doce em calda, após maceração da casca para eliminação de substâncias que conferem sabor amargo à casca. O doce elaborado (55 °Brix) apresentou aceitabilidade acima de 80% para todas as faixas etárias, com maior preferência pelas crianças (OLIVEIRA *et al.*, 2002). Carvalho *et al.* (2005) propuseram uma alternativa de aproveitamento do albedo, a partir da produção de um novo produto obtido por desidratação osmótica e enfatizaram o elevado teor de pectina, associado à hipocolesterolemia. Matsuura (2005) elaborou barras de cereais com albedo de maracujá como ingrediente, com acréscimo do teor de pectina no

produto final (0,88 a 1,26%) e aumento da resistência ao corte e da dureza. Entretanto, a aceitação sensorial das barras permaneceu próxima à nota 7,0 e foram mantidas as características da formulação durante quatro meses de armazenamento. Leoro (2007) utilizou o farelo de maracujá como ingrediente de cereal matinal extrusado (12%). Entretanto, esses produtos apresentaram teores de compostos cianogênicos totais, diretamente proporcionais à quantidade de farelo adicionado. Os compostos cianogênicos devem estar abaixo de 10 mg eq HCN kg⁻¹ para atender ao limite de segurança que preconiza o Codex Alimentarius (SANT'ANA; DOMENE, 2008).

Com relação ao processamento do maracujá-amarelo, dentre as empresas contatadas por meio eletrônico para informação, apenas a indústria Fruteza (Dracena-SP) respondeu, informando que não há fracionamento, nem qualquer outro tratamento do resíduo na empresa, sendo armazenado em silo e posteriormente coletado para composição de ração animal (ZANATTA, 2008).

4.1.5 Pectina de resíduos do processamento do maracujá-amarelo

A preocupação com a disposição dos resíduos industriais de maracujá-amarelo foi já manifestada em 1980, por Prasad, na Ilhas Fiji. Esse autor citou que as cascas frescas dessa fruta resultavam num rendimento de 2,4% de pectina, considerada de fraco valor comercial. A previsão anual de recuperação de pectina a partir desses resíduos seria de 4,5 toneladas (JANSEN, 1991).

Nos últimos anos, a casca de maracujá tem sido estudada como matéria-prima alternativa para extração de pectina como detalhado a seguir.

Peres *et al.* (2005) extraíram a pectina do albedo de maracujá sob refluxo a 80 °C por uma hora (razão soluto/solvente 1:50), com água acidificada com 5 mL de ácido nítrico 0,1N . Após rendimento médio de 15,7% na primeira extração, o albedo parcialmente esgotado foi novamente desidratado e utilizado para extração de pectina, resultando em 12,4%. Os autores concluíram que, potencialmente, cerca de 30% de pectina poderia ser extraída do albedo de maracujá-amarelo. Não foram feitos estudos sobre a qualidade dessa pectina. Quantidade semelhante de 27,8% foi relatada por Matsuura (2005), com redução do conteúdo metoxílico de 5,6% para 2,4% após processamento do albedo por imersão em salmoura associada a tratamento térmico.

D'Addosio *et al.* (2005), em estudo que analisou a influência do estado de maturação da casca e do ácido utilizado na extração de pectina da casca seca de maracujá-amarelo, em condições fixas de pH, temperatura e tempo de extração única, obtiveram o máximo rendimento de 18,45% com H_3PO_4 (NaPO_3)₆ como agente de extração. A casca no estado de maturação amarelo apresentou o maior conteúdo de pectina, ainda que a extraída no estado de maturação verde-esbranquiçada exibiu as melhores propriedades geleificantes.

Kliemann (2006) encontrou valores de 38% de rendimento na extração de pectina com ácido nítrico (razão 1:50, 90 min, 90 °C). O percentual médio de esterificação classifica a pectina como HM, com 75,68% de DE.

Yapo e Koffi (2006) realizaram a extração sequencial de pectina da casca de maracujá-amarelo, resultando pectinas ricas em ácido galacturônico com baixo grau de esterificação e conteúdos relativamente baixos de açúcares neutros e grupos acetila. As características de aplicação dessa pectina foram similares às pectinas cítricas de baixa metoxilação.

De acordo com Yapo e Koffi (2008b), os polissacarídeos pécticos da parede celular da casca do maracujá são predominantemente homogalacturonanas, independentemente da natureza do agente extrator.

Yapo (2009a) concluiu que tanto a concentração quanto o tipo de ácido (cítrico, nítrico ou sulfúrico) influenciam o rendimento de pectinas extraídas do albedo de maracujá-amarelo tratada com etanol antes da desidratação para produção da matéria-prima. O menor rendimento foi obtido com o ácido cítrico, entretanto essa pectina apresentou o maior grau de esterificação e média de massa molar, bem como as melhores propriedades reológicas, comparativamente aos ácidos nítrico e sulfúrico.

Em outro estudo conduzido pelo mesmo autor (YAPO, 2009b), o suco de limão foi utilizado como agente ácido de extração de pectina, com obtenção de produto com características de qualidade superior às extraídas com ácido cítrico.

Ainda num terceiro trabalho, Yapo (2009c) concluiu que a composição química, a massa molar média e sua distribuição e a capacidade de formação de gel da pectina extraída podem ser afetadas pelo método de isolamento e purificação. A precipitação por ligação com íons metálicos mostrou-se mais efetiva na purificação, mas gera grande volume de efluentes em escala industrial. O resíduo da

precipitação com etanol pode ser facilmente gerenciado, sendo, na prática, ainda um método mais vantajoso que a ultrafiltração-diafiltração com o uso de membranas efetivas para remoção de contaminantes pécnicos como cinzas, ácidos livres e componentes proteicos.

4.2 OBJETIVO

- Selecionar a fração do pericarpo para utilizar como matéria-prima, a partir da composição da pectina extraída.

4.3 MATERIAL E MÉTODOS

4.3.1 Obtenção das farinhas de pericarpo

Os frutos de *Passiflora edulis* f. *flavicarpa* foram adquiridos no comércio, oriundos de produtores da cidade de Morretes (PR-Brasil), situado na zona costeira paranaense, numa altitude de oito metros acima do nível do mar, coordenadas 25°28'37" Sul, 48°50'2" Oeste. Os frutos para a produção e caracterização da farinha de pericarpo pertenciam à safra 2006 (ano de mercado 2006-07) e estavam maduros e sem danos aparentes, sendo descartados os imaturos ou em senescência.

Para padronização da cor da casca foi utilizado o padrão internacional desenvolvido pela Comissão International de l'Eclairage-CIE, sendo a coloração registrada em câmera Kodak EasyShare C743 Zoom Digital e especificada pelo conjunto de três cores primárias ("tristimulus") do espectro visível, definidas a partir do programa Corel Draw 12.0. O eixo sólido de cores é designado como L*, a* e b*, em que: L* corresponde ao eixo vertical ou luminosidade. Para um plano com um dado valor de L*, a* é uma coordenada positiva ou negativa, definindo um local relativo ao eixo púrpura-vermelho-azulado-verde. O b* define da mesma maneira, relativamente ao eixo amarelo azul. O a* e o b* são componentes cromáticos, com valores variando de -120 a + 120 (CHITARRA; CHITARRA, 2005).

Quatro diferentes farinhas foram produzidas a partir dos seguintes resíduos do processamento do maracujá-amarelo: [1] pericarpo ou casca integral, constituído pelo exocarpo + mesocarpo + endocarpo; [2] exocarpo ou parte colorida da casca,

mais externa; [3] mesocarpo ou albedo, parte branca intermediária; [4] endocarpo ou arilo carnoso, parte interna membranosa, na qual estão aderidas as sementes. Cerca de 10 kg de frutos foram lavados em água corrente e cortados para remoção da polpa, sem a separação das partes do pericarpo. Aproximadamente 20 kg de frutos tiveram a remoção manual do exocarpo, por meio de facas, sendo cortados para retirada da polpa (direcionada para outros experimentos) e do endocarpo, restando o mesocarpo exposto. Essas quatro diferentes matérias-primas frescas foram submetidas a tratamento térmico para inativação de possíveis enzimas, por imersão em água 97 °C durante três minutos, seguido de resfriamento em banho de gelo. Considera-se que há perda parcial de pectina solúvel durante esse processo de branqueamento. Esse material foi acondicionado em sacos de tecido sintético e centrifugado para eliminar o excesso de água e desidratado a 60 °C em estufa de circulação de ar, até massa constante (cerca de dezoito horas). O pericarpo e as frações secas foram separadamente triturados em moinho de facas.

Na Figura 17 estão esquematizadas as etapas utilizadas para produção da matéria-prima fracionada para extração comparativa de pectinas.

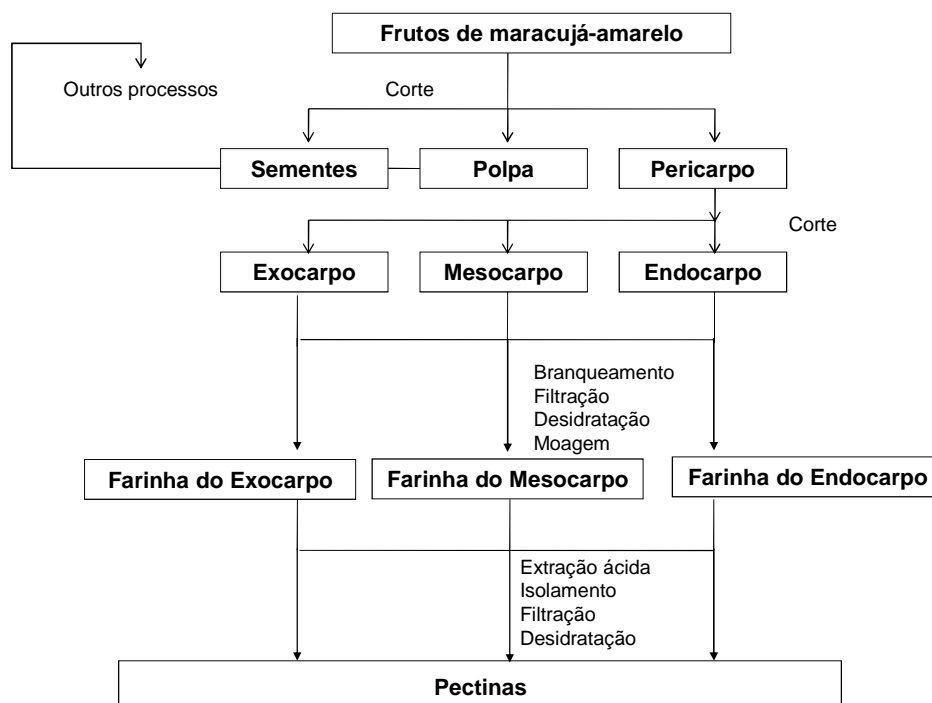


FIGURA 17-DIAGRAMA PARA PRODUÇÃO DE FARINHAS DO PERICARPO DO MARACUJÁ-AMARELO PARA USO COMO MATÉRIAS-PRIMAS NA EXTRAÇÃO DE PECTINA.

As farinhas resultantes, bem como uma amostra de farinha gentilmente cedida por uma fábrica de industrialização de resíduos de União da Vitória (PR), foram tamisadas através de peneiras com orifícios de 250 µm (60 MESH). As farinhas secas foram embaladas e armazenadas em frascos hermeticamente fechados e armazenadas em temperatura ambiente. A massa total de vários frutos aleatoriamente escolhidos foi registrada. A polpa foi removida e as frações (exocarpo, mesocarpo, endocarpo e sementes) foram separadas e pesadas para estabelecer o percentual relativo de cada uma.

4.3.2 Análises físico-químicas das farinhas

Foi estabelecida a umidade de cada fração fresca e respectiva farinha seca, por secagem direta das amostras em estufa a 105 °C até massa constante pelo método 012/IV (IAL, 2008). A partir do resultado de umidade das farinhas, todos os demais teores analisados foram expressos em base seca. Os teores de cinzas, lipídeos, proteína e fibra dietética total foram determinados, respectivamente, de acordo com os métodos 923.03, 960.39, 955.04 e 985.29 da AOAC (2000).

Os carboidratos disponíveis (CD) foram calculados pela subtração dos componentes acima mencionados a partir da equação 1 (FAO, 2002):

$$\text{CD} = 100 - (\text{massa em gramas [proteínas + lipídeos + cinzas + álcool + fibra dietética total] em 100g de alimento})^*.$$

*enquanto considerado em base seca, foi eliminada da equação a umidade.

Equação 1

O valor energético das farinhas foi calculado considerando os seguintes valores: 4 kcal g⁻¹ para proteínas e carboidratos disponíveis, 9 kcal g⁻¹ para lipídeos e 2 kcal g⁻¹ para fibra dietética total. O valor de 7 kcal g⁻¹ para álcool não foi considerado nesse cálculo, visto essa matéria-prima não apresentar esse componente (FAO, 2002).

Para extração dos compostos fenólicos, alíquotas de matéria-prima (1g) foram diluídas em tubos plásticos graduados com tampa com 50 mL de água-etanol 70% (1:4) e permaneceram por vinte e quatro horas em temperatura -18 °C. Posteriormente, essa suspensão foi centrifugada a 12.000xg por 10 minutos e o sobrenadante foi coletado para utilização como amostra na estimativa do conteúdo

total global de fenólicos, conduzida pelo método Folin-Ciocalteu modificado (SINGLETON *et al.*, 1999). Nessa metodologia, 100 µL de amostra são solubilizados em 8,4 mL de água destilada e 0,5 mL do reativo de Folin-Ciocalteu é adicionado sob agitação. Após três minutos, acrescenta-se 1000 µL de solução saturada de carbonato de sódio e faz-se a leitura em espectrofotômetro a 720 nm após sessenta minutos. Deve ser feito um tubo controle (branco) para zerar o espectrofotômetro sem a adição do reativo. A concentração dos compostos fenólicos foi estimada com o uso de catequina como polifenol padrão (n=5).

4.3.3 Hidrólise dos polissacarídeos

Para a hidrólise de material insolúvel em água, foram pesados entre 8 e 12 mg (valor exato registrado) de cada amostra em tubos com tampa, adicionados de 250 µL de ácido sulfúrico (H₂SO₄) 72%, com agitação intensa em vórtex. Esses tubos permaneceram uma hora em temperatura ambiente ($\pm 20^{\circ}\text{C}$) com agitação a cada quinze minutos aproximadamente. Posteriormente, adicionou-se 1 mL de solução de inositol (1mg mL⁻¹) e 1,7 mL de água (MilliQ), com homogeneização. Os tubos foram acondicionados nos orifícios de um bloco digestor a 100 °C, com agitação ocasional. Ao término dessa hidrólise, os tubos foram resfriados sob água corrente e permaneceram em repouso para deposição do material insolúvel. Esse processo é denominado hidrólise de Saeman (INRA, 2009a). Esse sobrenadante é utilizado como amostra na determinação do teor de açúcares neutros por cromatografia a gás, após derivatização em acetatos de alditóis (SLONEKER, 1972; INRA, 2009a), bem como de ácido galacturônico por espectrofotometria (BLUMENKRANTZ, ASBOE-HANSEN, 1973; INRA, 2009b). Para hidrólise de material “solúvel”, como a pectina, cerca de 1 mL de solução de inositol (1 mg mL⁻¹) foi adicionado sobre 8 a 12 mg de cada amostra (valor exato registrado), em tubos com tampa. Após agitação em vórtex, foram adicionados 1 mL de ácido sulfúrico 2M, homogeneizados vigorosamente em seguida. Os tubos permaneceram durante três horas a 100 °C, com agitação ocasional, sendo resfriados depois de decorrido esse tempo, sob água corrente. Esse processo é denominado de hidrólise. O resultado dessa hidrólise é utilizado para a análise do teor de monossacarídeos neutros. O resultado da diferença entre a glucose obtida a partir dos acetatos de alditóis da

hidrólise de Saeman e da hidrólise resulta na glucose advinda da quebra da cadeia de celulose.

4.3.4 Teor de ácido urônico

Para a dosagem do teor de ácido urônico, foi construída uma curva de calibração de cinco pontos com padrão de ácido galacturônico, com concentração variando entre 0 a 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para cada lote de amostras analisadas. Para cada amostra foram preparados três tubos de ensaio (um branco, reservado para permanecer sem o reativo metahidroxidifenil). Para a curva de calibração, os ensaios foram realizados em duplicata. Nos tubos imersos em banho de água e gelo, acrescentou-se 0,5 mL de amostra hidrolisada, adequadamente diluída, ou da solução padrão, mais 3 mL de solução de tetraborato em ácido sulfúrico. Os tubos foram agitados com auxílio de vórtex e em seguida imersos em banho-maria termostaticado a 80 °C durante dez minutos. A reação foi paralisada pela imersão dos tubos em banho de gelo e água, até temperatura ambiente. Em cada tubo, foram adicionados 50 μL de metahidroxidifenil para as amostras ou 50 μL de NaOH 0,125N para os brancos, com agitação intensa em vórtex. A leitura foi feita a 520 nm em espectrofotômetro Varian Cary 100, depois de exatamente dez minutos de incubação (INRA, 2009b; BLUMENKRANTZ, ASBOE-HANSEN, 1973).

Para essa análise, as amostras de material insolúvel em água correspondem aos sobrenadantes obtidos após hidrólise de Saeman. As amostras de material solúvel ou de pectina correspondem à solução obtida depois da saponificação para determinação do teor de metanol por cromatografia a gás acoplada à espectroscopia de massa (GC-MS).

4.3.5 Teor de monossacarídeos neutros por cromatografia a gás

Os sobrenadantes (1 mL) com os monossacarídeos livres, após as hidrólises de acordo com a natureza da amostra, bem como uma solução padrão, foram neutralizados com NH_4OH 33%, até pH superior a 9. Posteriormente, foram adicionados 0,1 mL de solução de NaBH_4 recentemente preparada (100 mg mL^{-1} em meio alcalino) e os tubos permaneceram em repouso por uma hora para redução em alditóis. As amostras foram neutralizadas com ácido acético. Cerca de 3 mL de

anidrido acético foram adicionados em alíquotas de 300 μL da amostra para promover a acetilação durante trinta minutos, com uso de N-metil-imidazol como catalisador da reação. Em seguida, fez-se a separação dos acetatos de alditóis resultantes, solúveis na fase apolar, pela adição de 3 mL de CH_2Cl_2 e 5 mL de água na primeira lavagem e KHCO_3 0.2M nas quatro lavagens posteriores. Essa fase polar ou aquosa foi eliminada com auxílio de bomba a vácuo, até não haver mais resíduo de ácido acético (INRA, 2009a).

A fase apolar foi transferida para tubos próprios, para injeção em cromatógrafo gasoso GC-FID HP 5890 Série II (Agilent, Inc, Palo Alto, USA) com coluna capilar de 30 m x 0,25 mm revestida com película de 0,25 μm DB225 MS (J&W Scientific, Agilent, Inc, Palo Alto, USA). As condições para análise foram temperatura de injeção de 250 $^{\circ}\text{C}$ em modo *split* (razão 1:25), gás carreador hidrogênio a 45 cm/s (a 215 $^{\circ}\text{C}$), fluxo da coluna de 1.3 mL/min e a temperatura isotérmica a 215 $^{\circ}\text{C}$. A quantidade de íons formada é detectada por um detector de ionização de chama (FID - Flame Ionization Detector). A concentração de cada gás é proporcional ao número de íons formados. Utilizou-se como padrão uma mistura dos açúcares ramnose, fucose, arabinose, xilose, manose, galactose, glucose e inositol (padrão interno), todos na concentração de 1g L^{-1} .

4.3.6 Teor de metanol por GC-MS

A concentração molar de metanol foi determinada no espaço confinante (usualmente denominado *headspace* por cromatografia a gás acoplada à espectroscopia de massa (GC-MS) (RENARD; GINIES, 2009), depois de saponificação. Amostras de 10 mg de pectina foram dissolvidas em 4 mL de água destilada e saponificadas pela adição de 1 mL de KOH 1M contendo CD_3OH ($7\text{ }\mu\text{mol mL}^{-1}$) como padrão interno, em repouso por duas horas em temperatura ambiente. Para cromatografia a gás foi utilizado o equipamento GC-MS QP2010 Shimadzu com coluna capilar Cp-wax-52cb 30 m x 0.32 mm x 0.5 μm (Varian, Inc, Palo Alto, USA) equipado com auto-injetor das amostras AOC5000. O frasco selado foi incubado no próprio equipamento a 50 $^{\circ}\text{C}$ por quinze minutos e então 0,5 mL do *headspace* foi injetado (razão 1:10). As condições da cromatografia a gás foram: gás carreador hélio a 45 cm.s^{-1} e isotermas de temperaturas a 40 $^{\circ}\text{C}$. As condições do detector de massa foram: modo de ionização eletrônico de impacto (70eV) e

temperatura da fonte de 200 °C com dados coletados usando SIM para íons selecionados (m/z 31; 32; 35) a 5 scans/s. O íon em m/z 31 (CD_3O^+) foi preferido ao em m/z 32 para CH_3OH , em função de resultar num melhor sinal. O íon em m/z 35 é o íon molar para CD_3OH , sendo altamente específico para esse composto.

Uma curva de calibração foi elaborada com o metanol na faixa 0,6-6 $\mu\text{mol mL}^{-1}$ com CD_3OH como padrão interno a 1,4 $\mu\text{mol mL}^{-1}$. As concentrações de metanol foram calculadas a partir da equação obtida, considerando-se a área do pico de metanol pela área do pico de metanol deuterado. A massa molar foi calculada considerando-se a massa da molécula de metanol, igual a 32.

4.3.7 Grau de metilação (DM)

O grau de metilação foi estimado pela razão molar entre a concentração de metanol e de ácido galacturônico, expressa pela seguinte equação:

$$DM(\%) = \frac{\text{concentração molar de metanol}}{\text{concentração molar de ácido galacturônico}};$$

Equação 2

4.3.8. Metodologia para obtenção de pectinas em bancada

A extração e o isolamento das pectinas nessa tese foram conduzidos a partir de estudos prévios, com pequenas modificações (SCABIO *et al.*, 2007; FERTONANI *et al.*, 2009). O ácido nítrico foi selecionado como agente extrator em função de seu uso corrente em processos industriais devido à eficiência, bem como ao impacto corrosivo limitado em tubulações e tanques de aço inox.

A farinha de casca de maracujá foi suspensa em água e foi preparada solução ácida de igual volume, a partir da diluição de ácido nítrico 1M. A suspensão ácida deveria apresentar razão final sólido-líquido 1:50 (w/v). Ambos os frascos foram aquecidos até a temperatura de extração e os conteúdos foram misturados em um sistema de condensação, sendo cronometrado o tempo estabelecido. O processo de extração foi interrompido por imersão do recipiente com a suspensão ácida em banho de água e gelo.

A suspensão ácida resultante é constituída pela porção insolúvel da parede celular vegetal (celulose, hemicelulose, lignina e ainda pectina) e pelo extrato ácido líquido, no qual parte da pectina se encontra solubilizada. Nessa fase, a pectina não é visualmente detectada.

Na Figura 18 está esquematizado o protocolo geral de extração e isolamento das pectinas utilizado nessa tese.

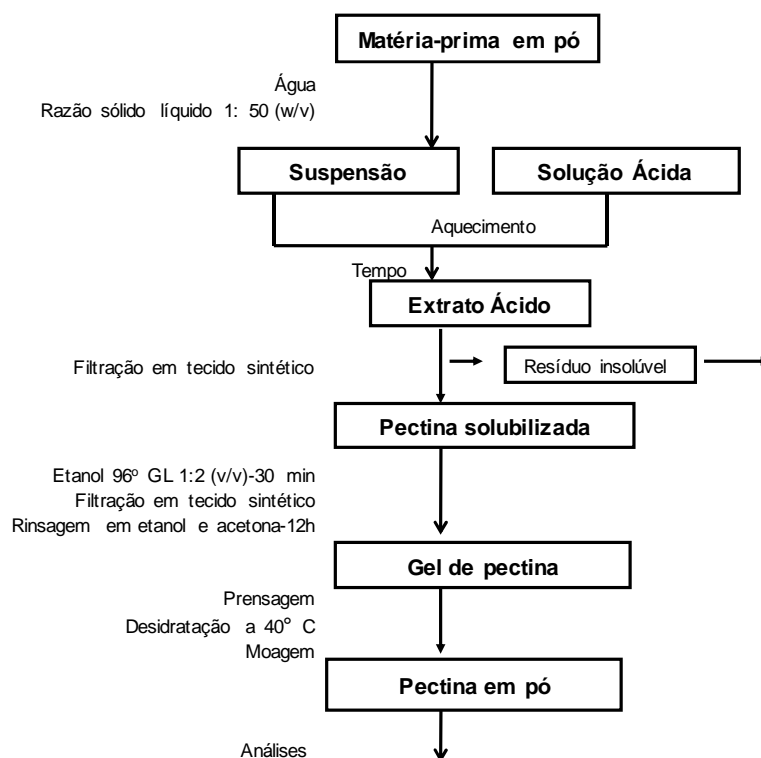


FIGURA 18-DIAGRAMA GERAL DE EXTRAÇÃO ÁCIDA E PRECIPITAÇÃO ALCOÓLICA DE PECTINAS A PARTIR DE FARINHAS.

Para o isolamento da pectina solúvel, o resíduo sólido foi separado por filtração em tecido sintético. O extrato ácido líquido foi adicionado a dois volumes de etanol 96 °GL, ambos a cerca de 4 °C (temperatura média de refrigerador), sob agitação. Nessa fase, a pectina torna-se um gel visível, localizado no fundo (precipitado) ou na superfície (flotado) do líquido etanólico. O sistema permaneceu em repouso por 30 minutos, para a separação do gel de pectina. O gel foi filtrado em tecido sintético e imerso em etanol 96 °GL, por cerca de quinze horas. Em seguida, foi parcialmente desidratado pela imersão em acetona por poucos minutos, seguida de prensagem em tecido sintético, e conduzido à estufa de circulação a 40 °C até massa constante (cerca de cinco horas).

A pectina em pó foi acondicionada em recipientes abertos num dessecador com pentóxido de fósforo durante a noite e armazenada posteriormente em frascos hermeticamente fechados entre 20-25 °C (temperatura ambiente do laboratório). As amostras foram homogeneizadas e tamisadas em peneiras com orifícios de 106 µm (150 MESH) antes de cada análise.

Para cada ensaio, os fatores de influência sobre a extração (tempo, temperatura e concentração de ácido) foram adaptados de acordo com os objetivos de cada sessão, podendo estar fixos, em caso de comparação entre diferentes matérias-primas ou variar, segundo um planejamento experimental com matéria-prima única.

O protocolo geral de obtenção de pectinas também está detalhadamente descrito no Apêndice 1.

Para seleção da fração de pericarpo mais adequada para uso como matéria-prima na extração de pectina de qualidade reológica superior, as condições de extração foram: 20 minutos a 80 °C com concentração final de ácido nítrico de 50mM.

4.3.9 Rendimento gravimétrico da pectina extraída

O percentual gravimétrico de cada pectina extraída foi calculado a partir da razão entre a massa da pectina desidratada em pó e a massa da farinha desidratada utilizada como matéria-prima, ambas em base seca.

4.3.10 Grau de esterificação (DE)

O DE foi determinado por titulação pelo método proposto por Bocek; Zabivalova; Petropavlosvskii (2001). Amostras de pectina seca (0,05g) foram solubilizadas em 50 mL de água destilada, entre 12 e 15 horas, em estufa a 50° C em recipientes fechados. Duas amostras de pectina com grau de esterificação conhecido, gentilmente providenciadas pela empresa Herbstreith & Fox (CU201 e CU701), foram utilizadas para calcular um fator de correção para calibração dos resultados, a cada vez que cada determinação era feita. Dessa maneira, era evitada a grande variação de resultados observada numa mesma amostra analisada em diferentes períodos. A solução foi titulada com solução de NaOH 0,05 N até pH 8,5 ±

0,2, verificado em pHmetro digital Quimis, sendo o volume gasto registrado como inicial (V1). Um processo de saponificação foi realizado pela adição de NaOH 0,5 N por trinta minutos a 30 °C em estufa. A solução foi posteriormente neutralizada pela adição do mesmo volume de HCl 0,5 N com fator de correção exatamente equivalente, cuidadosamente ajustado antes da análise. O excesso de HCl foi titulado com NaOH 0,5 N e o resultado registrado como volume final (V2). O DE foi calculado por meio da seguinte equação:

$$\% \text{ DE} = [V2/(V1+V2)]*100$$

Equação 3

4.3.11 Viscosidade reduzida

Para essa caracterização reológica, dispersões preparadas pela dissolução de pectina (1 g L⁻¹) em solvente contendo NaCl 90 mM, NaF 10 mM e Na₂EDTA 1 mM, em pH 6,5 (YAPO; KOFFI, 2006) foram filtradas através de membrana de acetato de celulose (Milipore) com poros de 0,45 µm, antes de serem pipetadas em um viscosímetro capilar Schoot (capilar nº100, tipo 51310 Cannon-Fenske, Constant k=0,015), imerso em termostato transparente CT-52 a 25 ± 1 °C. O tempo de escoamento foi registrado três vezes com cronômetro para determinar o valor absoluto de viscosidade cinemática. Uma tabela específica para o viscosímetro foi utilizada para corrigir a energia cinética e a viscosidade cinemática foi calculada para cada amostra e solvente, de acordo com as equações:

$$\eta_{\text{cin.}} = K (t - E_c)$$

$$i\eta = (\eta_{\text{cin. da solução}} - \eta_{\text{cin. do solvente}}) / \eta_{\text{cin. do solvente}}$$

$$\eta_{\text{red}} = i\eta / c$$

Equações 4, 5 e 6

Onde $\eta_{\text{cin.}}$ = viscosidade cinemática; K = constante para o capilar nº100; t = média do tempo de escoamento; E_c = correção da energia cinética segundo tabela; $i\eta$ = incremento da viscosidade relativa; η_{red} = viscosidade reduzida; c = concentração da dispersão.

4.3.12 Perfil de massa molar por HPSEC-MALLS

A cromatografia de exclusão estérica de alta pressão (HPSEC) foi utilizada para determinar o perfil de massa molar da pectina. Amostras de pectina foram dissolvidas em solução NaNO_2 0,1M contendo NaN_3 ($0,5 \text{ g L}^{-1}$), também utilizada como eluente. A análise foi realizada em equipamento de multidetecção com refratômetro diferencial Waters 2410 e detector multi-ângulo de espalhamento de luz a laser (MALLS) Wyatt Technology Dawn F, ligado ao computador. Quatro colunas Waters Ultrahydrogel 2000/500/250/120 foram conectadas em série e acopladas ao equipamento de multidetecção. As amostras foram previamente filtradas, através de membrana de acetato de celulose ($0,22 \mu\text{m}$; Millipore) e injetadas a $1,5 \text{ mg mL}^{-1}$. Os dados foram registrados e analisados pelo programa Wyatt Technology ASTRA.

4.3.13 Análises estatísticas

Para as análises estatísticas, três determinações foram feitas para cada análise e os resultados expressos como a média destes valores \pm desvio-padrão. A análise de variância foi conduzida ao nível de significância de $p=0,05$ para estudo da variação entre as amostras. O teste de Tukey foi utilizado para determinar as diferenças entre cada matéria-prima vegetal.

4.4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.4.1 Caracterização das frações da matéria-prima

A coloração média aproximada dos frutos selecionados foi $L^* = 60,3 \pm 0,5967$, $a^* = 1,3 \pm 1,5275$ e $b^* = 51,0 \pm 7,5498$, ressaltando a cor amarela com média luminosidade, expressas respectivamente pelos parâmetros b^* e L^* na escala de cores. Um fruto de maracujá imaturo, de coloração verde escura analisado pelo mesmo método, apresentou $L^* = 36$, $a^* = -8$ e $b^* = 34$. Na Figura 19 é apresentada a fotografia de um fruto de maracujá-amarelo para fornecer uma noção do tamanho, da coloração e do estado da totalidade dos frutos utilizados como matéria-prima nesse estudo.

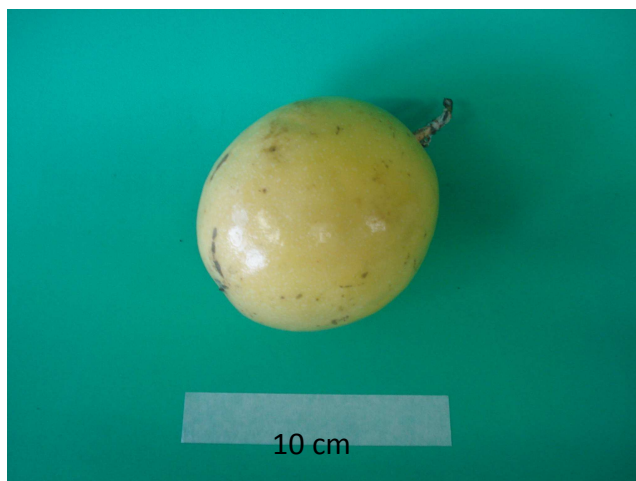


FIGURA 19-AMOSTRA DE FRUTO DO MARACUJÁ-AMARELO UTILIZADO COMO MATÉRIA-PRIMA.

Determinou-se a massa dos frutos frescos de maracujá e de suas frações para calcular a estimativa percentual do resíduo gerado durante um possível processamento para produção de suco. Os frutos avaliados apresentaram massa aproximada por unidade entre 145 e 210 gramas, resultando valor médio de 180 gramas. Machado *et al.* (2003) encontraram massa média dos frutos provenientes da Bahia de 150 gramas e o valor máximo descrito por Cabral; Freire Júnior; Da Mata (2005) foi de 160 gramas.

A Tabela 5 enumera os resultados percentuais das frações obtidas a partir do processamento do maracujá-amarelo fracionado, comparados aos dados publicados por outros autores.

TABELA 5-PERCENTUAL DAS FRAÇÕES DE FRUTOS DE MARACUJÁ AMARELO PARANAENSES, SAFRA 2006/2007, COMPARADOS AOS DESCRITOS POR OUTROS AUTORES.

| FRAÇÃO | Presente estudo | Ferrari, Colussi, Ayub, 2004 | Oliveira <i>et al.</i> , 2002 | Machado <i>et al.</i> , 2003 |
|---------------------|-----------------|------------------------------|-------------------------------|------------------------------|
| Exocarpo | 15 (2,1) | n.d. | n.d | 24c |
| Mesocarpo | 27 (3,3) | n.d. | n.d | 33 |
| Endocarpo | 6 (1,4) | n.d. | n.d | n.d. |
| Pericarpo (inteiro) | 48 ¹ | 50 | 53 | 56 ¹ |
| Sementes | 13 | 26 | 21 | 23 |
| Suco | 34 | 23 | 26 | 21 |
| Polpa+sementes | 50 (2,9) | 49 | 47 | 44 |

Números entre parênteses correspondem aos desvios-padrão/ ¹obtido pela soma das médias do exocarpo, endocarpo e mesocarpo/ n.d= análises não determinadas.

Os valores do desvio-padrão indicam a alta heterogeneidade das frações, embora a coloração dos frutos avaliados seja aparentemente homogênea, na tentativa de padronizar o grau de maturação. A soma das frações não correspondeu

a 100%, com perda de massa de cerca de 3%. Isso pode ser devido à retenção do suco nos orifícios da peneira durante o processo de separação das sementes.

Em função da eliminação quase que completa do suco aderido aos grãos nesse trabalho, o percentual de sementes (13%) foi menor comparado aos resultados dos outros autores (maior que 20%). Embora a lavagem das sementes seja uma operação adicional, se a água utilizada para tal processo for de boa qualidade, poderia ser reciclada e incorporada ao suco produzido, visto carrear componentes da polpa. Askar e Treptow (1997) encontraram valores próximos, com as sementes compondo 10% do resíduo do processamento do maracujá-amarelo.

A elevada diferença entre os percentuais do exocarpo pode ser devida à profundidade do corte e tipo de instrumento utilizado com o propósito de separação dessa fração. O pericarpo correspondeu aproximadamente à metade (47%) da massa dos frutos e as sementes 13%, resultando num total de 60% de resíduo. Esses valores foram mais baixos que o percentual de resíduos totais citado em outro estudo, de aproximadamente 75% (ASKAR; TREPTOW, 1997). Os valores registrados para pericarpo por outros autores foram ligeiramente maiores, de acordo com os dados da Tabela 5.

Na Figura 20 está demonstrada a diferença de coloração entre as matérias-primas utilizadas para extração de pectina.



FIGURA 20-PERICARPO DE MARACUJÁ-AMARELO E FRAÇÕES: [1] MESOCARPO; [2] PERICARPO ou INTEGRAL; [3] EXOCARPO; [4] ENDOCARPO.

A umidade das frações frescas de pericarpo foi de $81,5\% \pm 3,201$ para o exocarpo, $84,2\% \pm 6,098$ para o mesocarpo e $88,2\% \pm 2,318$ para o endocarpo.

Dessa maneira, a umidade média do pericarpo fresco pode ser considerada 84,6%. Neste trabalho, as frações endocarpo e exocarpo apresentaram coloração mais escura, provavelmente em função da maior concentração de compostos fenólicos, os quais teriam sido oxidados antes da desidratação por ação de enzimas endógenas conhecidas como polifenoloxidasas (NOGUEIRA *et al.*, 2008).

A Tabela 6 indica os resultados obtidos das análises para composição aproximada do pericarpo integral e fracionado.

TABELA 6 COMPOSIÇÃO APROXIMADA, COMPOSTOS FENÓLICOS E PECTINA EXTRAÍDA DE PERICARPO DE MARACUJÁ E FRAÇÕES.

| Análises | Exocarpo | Mesocarpo | Endocarpo | Pericarpo |
|---|-------------------------|--------------------------|-------------------------|-------------------------|
| Proteínas (%) | 4 ± 0,2 ^a | 3 ± 0,2 ^c | 13 ± 0,03 ^b | 3,72 ± 0,2 ^d |
| Lipídeos (%) | 0,6 ± 0,1 ^a | 0,6 ± 0,2 ^c | 1,3 ± 0,3 ^b | 0,70 ± 0,06 |
| Cinzas (%) | 7 ± 0,3 ^a | 7 ± 0,6 ^c | 9 ± 0,4 ^b | 7 ± 0,1 ^c |
| Pectina Extraída (%)* | 5 ± 0,6 ^a | 14 ± 1,4 ^b | 6 ± 0,7 ^a | 11 ± 1,6 ^b |
| Carboidratos disponíveis (%) | 28 | 23 | 29 | 23 |
| Fibra dietética total (%) | 61 ± 4,0 ^a | 66 ± 0,5 ^a | 48 ± 1,5 ^b | 65 ± 3,2 ^a |
| Compostos fenólicos (g kg ⁻¹) | 1,7 ± 0,04 ^a | 1,27 ± 0,02 ^a | 1,3 ± 0,03 ^a | 1,5 ± 0,03 ^a |
| Umidade (%) | 4 ± 0,1 ^a | 6 ± 0,6 ^b | 6 ± 0,4 ^b | 4 ± 0,6 ^a |
| Valor calórico (kcal/100g) | 254 | 242 | 273 | 243 |

Números entre parênteses correspondem ao desvio-padrão de cada análise; médias com letras diferentes em uma mesma linha indicam serem significativamente diferentes a $p = 0,05$ (teste de Tukey). * condições de extração: 50mM de ácido nítrico, 80° C e 20 minutos, com precipitação etanólica

O endocarpo apresentou teores mais elevados de proteínas, lipídeos e cinzas que as outras frações analisadas, mas menores conteúdos de fibras. O rendimento de extração de pectina dessa fração se mostrou baixo. Em função desse resultado, sugerem-se estudos de aplicação dessa fração para suplementos alimentares proteicos, bem como minerais, após identificação dos principais constituintes para eliminar potenciais perigos de toxicidade. Deve-se considerar que a metodologia utilizada para determinação de proteínas inclui o nitrogênio orgânico, constituinte de outras moléculas não-proteicas.

O teor proteico foi o parâmetro com maior variação comparada aos dados da literatura apresentados na Tabela 4 (p. 61) e a concentração de lipídeos apresentou a menor variação entre os estudos. Os outros autores consultados também encontraram teores de fibra dietética total acima de 50% para pericarpo de maracujá-amarelo. Isso enfatiza a possibilidade de desenvolvimento de um ingrediente funcional natural, desde que o processo de secagem seja cuidadosamente conduzido e a umidade mantida baixa. Dessa maneira, a fermentação pode ser evitada, bem como o escurecimento ou queima do produto. O percentual comparativo das pectinas extraídas, obtidas sob iguais condições, indicou

rendimento mais alto no mesocarpo, similarmente aos frutos cítricos, onde as pectinas estão localizadas na parte interna da casca ou albedo (FOX, 1984).

Outro estudo realizado com extração conduzida com ácido nítrico nas frações do pericarpo durante 60 minutos resultou num rendimento de pectina de 2,07% no exocarpo, 6,86% no endocarpo e 15,66% no mesocarpo, confirmando a superioridade dessa fração para extração de pectina com relação ao rendimento (PERES; CANTERI-SCHEMIN, 2005). As diferenças no rendimento podem ser inerentes à separação das frações, com parte do mesocarpo aderido ao exocarpo durante sua retirada.

Segundo a RDC 263 da ANVISA (ANEXO 2), as farinhas são produtos obtidos de partes comestíveis de frutos por moagem e os farelos são resultantes do processamento de grãos de cereais e/ou leguminosas, constituídos principalmente de casca ou gérmen (BRASIL, 2005a). Dessa maneira, a moagem do pericarpo de maracujá é feita a partir de uma parte vegetal não comestível de um fruto, dificultando sua classificação como farinha ou farelo. O produto da moagem do pericarpo de maracujá-amarelo é comercializado em drogarias e mercados de produtos alimentícios, com alegação de efeitos positivos como a redução dos níveis plasmáticos de glucose e lipídeos, sob muitos nomes comerciais, adicionado ou não de outras substâncias. Muitas vezes, é denominado também erroneamente de fibra da casca do maracujá. Independentemente de como seja denominado, esse produto não apresenta registro obrigatório, de acordo com a Resolução RDC 278 (ANEXO 3) da ANVISA (BRASIL, 2005b). Neste trabalho, padronizou-se denominar esse produto como farinha, visto ser possível a comparação com a laranja, com o mesocarpo (albedo) e endocarpo comestíveis.

O teor de umidade da farinha de pericarpo e frações está abaixo do valor máximo de 15% estipulado pela ANVISA (BRASIL, 2005a). Segundo estudos de dessorção da casca de maracujá, a faixa ideal de umidade para armazenamento sem o uso de aditivos ou refrigeração para evitar crescimento de microrganismos deve ser de 5,3% (OLIVEIRA *et al.*, 2006). Assim, preconiza-se que as farinhas de mesocarpo e endocarpo sejam armazenadas em refrigerador até a utilização como matéria-prima para extração de pectina.

O valor energético médio da farinha de pericarpo do maracujá-amarelo ficou próximo a 250 kcal/100g de produto, semelhante ao valor de 237 kcal/100g

encontrado por Córdova *et al.* (2005). Isso significa que essa farinha é pouco energética quando comparada às farinhas de trigo integral com 333 kcal/100g e de casca de batata, com 292 kcal/100g (FERNANDES *et al.*, 2008). A partir desse resultado, pode-se indicar essa farinha como substituto parcial em dietas para redução de peso corporal.

A Tabela 7 apresenta os resultados da dosagem de monossacarídeos (neutros e ácido galacturônico) do pericarpo de maracujá-amarelo e frações.

TABELA 7-PRINCIPAIS MONOSSACARÍDEOS DO PERICARPO DE MARACUJÁ-AMARELO (mg g⁻¹).

| Amostra | Rha | Fuc | Ara | Xyl | Man | Gal | Glc | Glc2 | AUA | TAN |
|-----------|-------|--------|--------|---------|--------|--------|----------|----------|----------|----------|
| Exocarpo | 4±0,6 | 2±0,1 | 23±1,8 | 133±7,4 | 18±1,7 | 23±1,9 | 230±18,7 | 136±11,9 | 120±6,1 | 555±29,7 |
| Mesocarpo | 3±0,4 | 3±0,4 | 15±2,6 | 32±3,2 | 32±2,7 | 28±4,0 | 297±15,0 | 116±66,1 | 210±14,4 | 620±42,2 |
| Endocarpo | 6±0,1 | 1±0,04 | 7±0,2 | 16±0,5 | 20±1,0 | 11±0,3 | 239±5,6 | 180±10,5 | 142±3,0 | 441±10,5 |

Rha= ramnose; Fuc= fucose; Ara= arabinose; Xyl= Xilose; Man= manose; Gal= galactose; Glc= glucose; Glc2= glicose celulolítica (obtida a partir da diferença entre a hidrólise de Saeman e hidrólise simples); AUA= ácido galacturônico, TAN= total de açúcares neutros; valores entre parênteses indicam o desvio-padrão.

As frações do pericarpo foram submetidas à hidrólise e em seguida analisadas. A fração exocarpo ou flavedo apresentou alto teor de xilose (133 mg g⁻¹) e arabinose (23 mg g⁻¹) e conteúdo mais baixo de ácido galacturônico (120 mg g⁻¹) comparativamente às demais frações do pericarpo. Com teor relativo médio de ácido galacturônico (142 mg g⁻¹), a fração endocarpo ou arilo carnoso apresentou o mais elevado conteúdo de glucose celulolítica (180 mg g⁻¹). A fração mesocarpo ou albedo apresentou teores mais elevados de manose (32 mg g⁻¹), de galactose (28 mg g⁻¹) e de ácido urônico (210 mg g⁻¹) e alto conteúdo relativo de glucose não celulolítica (297 mg g⁻¹), provavelmente oriundo da hidrólise de amido.

Na cromatografia a gás para quantificação de monossacarídeos, o inositol foi utilizado como padrão interno. Quando alta precisão é necessária, o uso do padrão interno é especialmente aconselhável, visto que é submetido às mesmas condições da substância de interesse durante a corrida cromatográfica, possibilitando a correções de pequenos desvios de tempo de retenção e na sensibilidade do detector e erros devidos a variações no volume de injeção, entre corridas diferentes em um mesmo dia de trabalho. O tempo de retenção do composto de interesse pode ser calculado relativo ao padrão interno, minimizando diferenças no tempo de retenção (SOARES, 2001).

4.4.2 Análises das pectinas obtidas do pericarpo e frações

Os valores das análises efetuadas para as pectinas extraídas do pericarpo e de suas frações estão expostos na Tabela 8.

TABELA 8-PARÂMETROS DE QUALIDADE DA PECTINA DO PERICARPO DE MARACUJÁ-AMARELO E FRAÇÕES (80 °C, 20 MINUTOS E 50 mM DE ÁCIDO NÍTRICO).

| Amostra | DE (%) | DM (%) | $\eta_{\text{red}} 0,1\% (\text{dL g}^{-1})$ | CP (g kg^{-1}) |
|-----------|---------------------|---------|--|---------------------------|
| Exocarpo | 70±1,6 ^a | 56±0,05 | 2,2±0,001 ^a | 1,7±0,002 ^a |
| Mesocarpo | 79±0,8 ^b | 82±0,02 | 3,4±0,001 ^b | 0,2±0,003 ^b |
| Endocarpo | 59±0,1 ^c | 39±0,02 | n.d. | 0,3±0,05 ^c |
| Pericarpo | 70±0,8 ^b | n.d | 2,2±0,006 ^a | 0,3±0,004 ^c |

n.d.= não determinado.; DE= grau de esterificação; DM= grau de metilação; η_{red} = viscosidade reduzida; CP= compostos fenólicos; RP= retenção aproximada de fenólicos; valores entre parênteses indicam o desvio-padrão.

Na farinha de mesocarpo, foi detectada elevada concentração molar de metanol, resultando no alto grau de metoxilação (79%). A pectina extraída do mesocarpo apresentou também alto grau de esterificação, resultado similar aos valores encontrados por D'Addosio *et al.* (2005), Kliemann (2006) e Pinheiro (2007) e diferente do valor citado por Yapo e Koffi (2006), que caracterizaram-na como de baixo grau de esterificação.

Embora tanto o DE quanto o DM correspondam ao mesmo parâmetro (conteúdo em metoxilas na cadeia do ácido galacturônico), houve diferenças significativas entre os resultados. Isso pode ser devido à maneira como foi calculado o DE por titulometria indireta modificada (BOCHEK *et al.*, 2001), sujeita a erros, mesmo com o uso de amostras padronizadas com DE conhecido para calibração de resultados. Na metodologia proposta por Renard (2008), as amostras devem ser dissolvidas em água decarbonatada, a titulação é realizada contra ácido oxálico ao invés de ácido clorídrico e a solução de hidróxido de sódio deverá ser recentemente preparada, para evitar modificação do fator de correção por evaporação do solvente, de ocorrência rápida.

A possível desvantagem de expressar o resultado em grau de metilação (DM) reside na forma de calcular o resultado, a partir de valores obtidos por métodos diferentes (colorimétrico para o teor de ácidos urônicos e cromatografia a gás para o teor de metanol). Por vezes, os resultados mostram-se incoerentes, ou seja, o DM ultrapassa 100%, o que seria impossível na prática. Ainda assim, o grau de

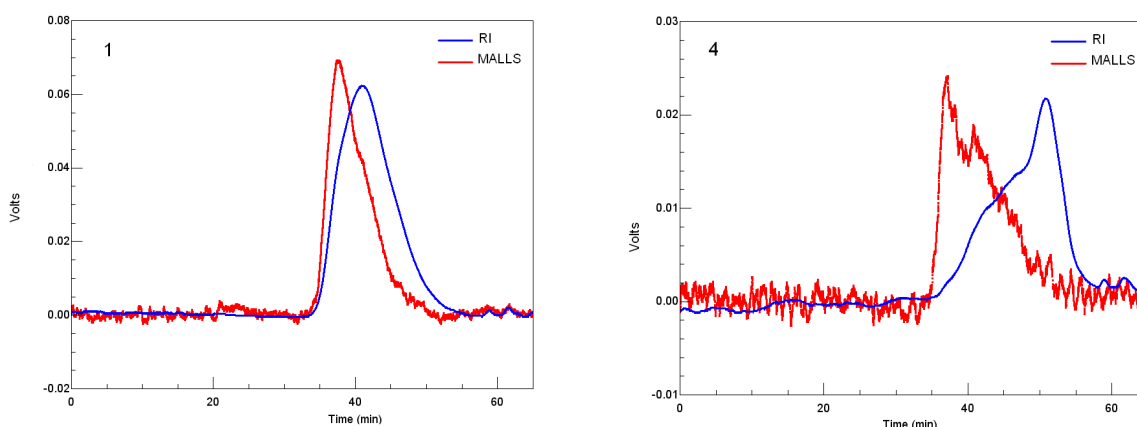
metilação obtido pela razão molar entre o metanol e o AUA mostrou-se um método mais confiável para teor de esterificação, com menor desvio-padrão entre as amostras comparado ao obtido por titulometria, método usual em nível industrial.

O exocarpo não se mostra adequado para a extração de pectina, pois, além do baixo rendimento de extração (apenas cerca de $5,0 \text{ g kg}^{-1}$ ou 5%-Tabela 6), os compostos fenólicos da matéria-prima mostraram-se ainda presentes na pectina extraída. A pectina do mesocarpo apresentou a menor retenção desses compostos comparados ao pericarpo integral. A presença de compostos fenólicos associados às pectinas pode ter muitas causas: na família *Chenopodiaceae*, os ácidos feruloil ou coumaruil estão éster-ligados às arabinanas e galactanas das pectinas (THIBAUT *et al.*, 1991); fenólicos ainda não identificados em ligações cruzadas das paredes celulares de alguns vegetais (RIDLEY; O'NEIL; MOHNEN, 2001) e finalmente, alguns fenólicos inicialmente presentes nas células podem ser extraídos nas mesmas condições das substâncias pécticas e posteriormente tornam-se associados à pectina (RENARD *et al.*, 2001; LE BOURVELLEC, GUYOT, RENARD, 2009). Em um estudo conduzido por SCHIEBER *et al.* (2003), os compostos fenólicos foram retidos por uma resina, resultando em pectina mais clara, mas com menor grau de esterificação. Estudos futuros podem permitir a caracterização desses componentes retidos e avaliar sua capacidade antioxidante.

Em função da quantidade insuficiente de amostra para produzir várias dispersões com diferentes concentrações, não foi calculada a viscosidade intrínseca e sim a viscosidade reduzida, a partir da viscosidade cinemática absoluta. Entretanto, isso não afetou a caracterização reológica das pectinas, visto que o objetivo do trabalho foi comparar o comportamento reológico das amostras sob condições analíticas equivalentes. Os valores mais altos para viscosidade reduzida ($3,41 \text{ dL g}^{-1}$) foram encontrados na pectina do mesocarpo (Tabela 8). Os valores de viscosidade intrínseca encontrados por Pinheiro (2007) para pectina de casca de maracujá extraída com ácido cítrico foram de $2,54 \text{ dL g}^{-1}$. O grau de esterificação não esteve diretamente correlacionado com a viscosidade. Isso também foi evidenciado nos resultados de vinte e seis amostras de pectina de beterraba extraídas sob diferentes condições (LEVIGNE; RALET; THIBAUT, 2002).

O perfil de eluição por HPSEC-MALLS das amostras de pectina estão apresentados na Figura 21. A presença de um único pico por espalhamento de luz

coincidente com o pico de índice de refração sugere a presença de uma população isolada de polímeros com alta massa molar na amostra de bancada (à esquerda). Esses resultados foram similares aos encontrados por PINHEIRO (2007) para pectinas isoladas de casca de maracujá com ácido cítrico. Entretanto, a pectina extraída com ácido nítrico sob condições mais severas de tempo e temperatura, mostraram um perfil diferenciado, confirmando a observação de que as condições de extração influenciam a qualidade da pectina extraída.



90°: espalhamento de luz em vermelho/ AUX1: índice de refração em azul; 1(à esquerda)-pericarpo de bancada e 4 (à direita) - pericarpo industrial.

FIGURA 21-PERFIL CROMATOGRÁFICO DE AMOSTRAS DE PECTINA EXTRAÍDA DO PERICARPO DE MARACUJÁ DE BANCADA E INDUSTRIAL COM ÁCIDO NÍTRICO (50mM), 20 MINUTOS A 80 °C.

O perfil cromatográfico da pectina isolada da matéria-prima industrial (Figura 20, à direita) mostrou uma distribuição polimodal em ambos os detectores (MALLS and RI), indicando a ocorrência de uma população de polímeros com diferentes massas molares. A mais alta intensidade detectada pelo RI não coincidiu com o sinal de MALLS, indicando que material com alta massa molar nessa amostra está presente em baixas concentrações.

4.5 CONCLUSÃO

A fibra dietética total foi o componente majoritário no pericarpo de maracujá-amarelo, com valores próximos a 60%, exceto para a fração endocarpo, a mais rica em proteína por nitrogênio orgânico total de todas as frações analisadas.

De acordo com certos autores, o pericarpo de maracujá-amarelo apresenta compostos cianogênicos, potencialmente tóxicos. Isso impediria a utilização direta do pericarpo na alimentação humana. O tratamento para eliminação desses componentes promove alterações qualitativas e quantitativas na fração péctica, às quais, em teoria, prejudicariam sua utilização. Se consideradas suas propriedades funcionais, a pectina perderia parte da função associada às fibras solúveis; com relação às propriedades de aplicação tecnológicas, teria reduzida sua capacidade geleificante ou espessante. Logo, a extração de pectina se mostra como uma alternativa mais segura para o uso do pericarpo do maracujá-amarelo quanto ao aspecto de toxicidade, embora não tenham sido feitas análises na pectina extraída nesta tese quanto ao teor de glicosídeos cianogênicos, visto estes serem componentes solúveis, eliminados com o extrato ácido.

Quanto às pectinas extraídas do maracujá, a fração mesocarpo resultou em maior rendimento de pectina (13,6%), com viscosidade superior às outras frações e ao pericarpo integral. O menor percentual de retenção de compostos fenólicos (15%) foi também obtido na pectina da fração mesocarpo ou albedo. A composição média dessa fração foi de 3,1% de proteínas; 0,6% de lipídeos; 7,1% de cinzas; 66,1% de fibra dietética total; 1,27 g Kg⁻¹ (0,13%) de compostos fenólicos, 23% de carboidratos disponíveis, 6,10% de umidade e valor calórico de 242 Kcal por 100 g de produto. Os principais monossacarídeos encontrados na farinha de mesocarpo foram a glucose (297 mg g⁻¹), o ácido galacturônico (210 mg g⁻¹), a xilose (32 mg g⁻¹), a manose (32 mg g⁻¹) e a galactose (28 mg g⁻¹). A pectina extraída do mesocarpo a 80 °C por 20 minutos com 50 mM de ácido nítrico, numa razão de 1:50 (w/v) apresentou alto grau de esterificação (79%) e de metoxilação (82%) e maior viscosidade reduzida. Assim, para obtenção de pectina com menor quantidade de compostos não-pécticos e melhor viscosidade, o mesocarpo deve ser utilizado. Por isso, essa fração do fruto foi selecionada como matéria-prima para estudar a influência das condições de extração sobre a qualidade da pectina extraída.

A partir dos dados de umidade e massa percentual, pode-se inferir que uma tonelada de maracujá-amarelo fresco resulta em quatrocentos e setenta kg de pericarpo ou cerca de trezentos kg de mesocarpo fresco, com umidade ao redor de 85%. Isso gera quarenta e cinco kg de mesocarpo desidratado. Considerando o rendimento médio de pectina de 15%, ainda sem otimização do rendimento de extração, poderiam ser extraídos quase sete kg de pectina de boa qualidade a partir

de uma tonelada de maracujá-amarelo fresco processado. Com a industrialização de aproximadamente trezentas mil toneladas desse maracujá no país, pode-se estimar que ao menos duas mil toneladas de pectina deixam de ser produzidas por ano a partir do mesocarpo de maracujá-amarelo. Considerando o valor de venda da pectina (QUIMIBRAS, 2010), a arrecadação de uma receita bruta equivalente a quase 250 milhões de reais é perdida.

Para utilização do mesocarpo na extração industrial, o processo de separação incluiria operações adicionais, aumentando tanto o custo quanto o tempo do processo. Entretanto, se considerado o alto valor econômico agregado da pectina extraída, o tratamento cuidadoso do resíduo para obtenção de matéria-prima de qualidade passa a ser primordial.

5 COMPARAÇÃO ENTRE AMOSTRAS DE PECTINA EXTRAÍDAS DE FARINHAS DE CASCA DE MARACUJÁ COMERCIAIS E DE BANCADA

Artigo correspondente: A comparative study of pectin extracted passion fruit rind flours.

5.1 IMPORTÂNCIA DA QUALIDADE DA MATÉRIA-PRIMA NA EXTRAÇÃO

A qualidade da matéria prima é um assunto de considerável interesse com relação à produção de pectina, com efeito significativo sobre o custo de processamento e características do produto. Para manter uma produção viável de pectina, não é suficiente apenas matéria-prima de alta qualidade, mas é necessária quantidade para custear efetivamente esse empreendimento. É conveniente extraí-la imediatamente após produção do suco ou promover a desidratação do material residual, capaz de ser armazenado por alguns meses e que permite ao produtor de pectina aquisição de matéria-prima de várias qualidades de diferentes origens, dependendo da disponibilidade, da qualidade e do preço. Isso permite a seleção em seu estoque do material apropriado para a produção de pectinas com características particulares, além de se evitar os efeitos adversos do clima e/ou da safra em determinada região. Inevitavelmente, alguma qualidade é perdida em função da pectina ser razoavelmente lábil ao calor. No estado fresco, a matéria-prima pode ser propensa ao crescimento de fungos produtores de uma larga quantidade de enzimas pécticas, ambas desesterificantes (pectina metilesterase EC 3.1.1.11) e depolimerizantes (poligalacturonase 3.2.1.15; pectina liase-EC 4.2.2.10; pectato liase EC 4.2.2.2). As cascas de cítricos contêm quantidades significativas de pectinametilesterase nativa que, em contraste à fúngica, produz blocos de material desesterificado, característica indesejável para algumas aplicações específicas. (MAY, 1990; THAKUR; SINGH; HANDA, 1997).

As pectinesterases são altamente específicas para os ésteres metílicos de cadeias poligalacturônicas. O fenômeno de desesterificação inicia-se pela extremidade redutora ou em algum “loco” secundário, próximo a grupos carboxílicos livres e prossegue ao longo da cadeia, dando origem a blocos constituídos por unidades de ácido galacturônico não esterificadas (WONG, 1995). Nem sempre esse fenômeno de desesterificação é negativo. A ativação da pectina metil esterase torna

disponíveis um grande número de grupos carboxilas livres nas moléculas de pectina, o que reduz a β -eliminação e permite ligações cruzadas por meio de pontes de sais com cálcio naturalmente presentes no tecido, efeito positivo na firmeza de vegetais minimamente processados (SMOUT *et al.*, 2005).

Algumas alterações na molécula de pectina, relacionadas às reações químicas e/ou enzimáticas durante o processamento térmico, como solubilidade, tamanho da cadeia e grau de esterificação podem ter importantes consequências na qualidade do produto (ANTHON; BARRET, 2008).

5.2. OBJETIVO

- Comparar as características físico-químicas e propriedades da pectina extraída de farinhas de casca de maracujá comerciais e de bancada.

5.3 MATERIAL E MÉTODOS: COMPARAÇÃO ENTRE AMOSTRAS DE PECTINA DE CASCA DE MARACUJÁ

5.3.1 Matéria-prima: farinhas de bancada e comerciais

Para estudo comparativo das farinhas comerciais e de bancada, os frutos de maracujá-amarelo foram adquiridos durante a safra 2007 (ano comercial 2007-08), também no município de Morretes (PR). Os frutos foram utilizados como matéria-prima para produção de farinha de bancada (Figura 17) a partir do mesocarpo de maracujá, codificada como PAS.

Para detectar atividade enzimática nativa na matéria-prima e preservar os compostos fenólicos, parte do mesocarpo úmido (cerca de 100 g) sem qualquer tratamento térmico foi submetido à liofilização em equipamento de bancada Liobras Modelo L101, até friabilidade da amostra (24 horas aproximadamente) e moída em moinho de facas. Essa farinha, codificada como FM, não foi utilizada como matéria-prima para extração ácida de pectina.

O diagrama com os processos para obtenção das diferentes matérias-primas está apresentado na Figura 22.

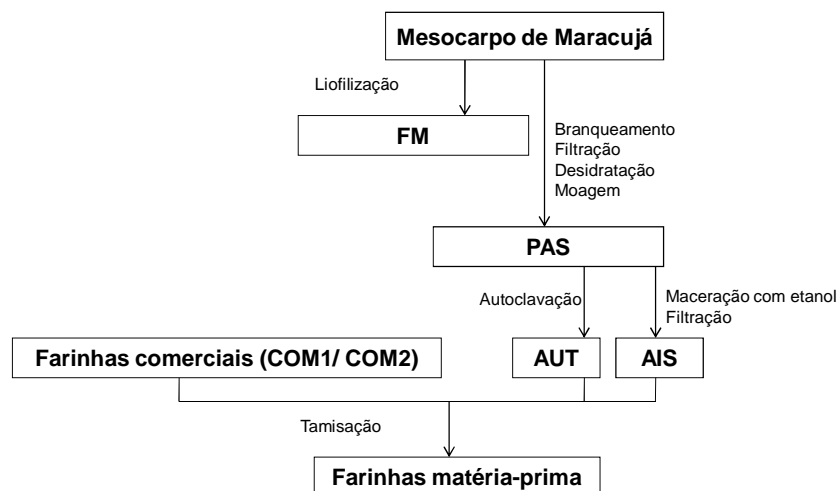


FIGURA 22-DIAGRAMA PARA PRODUÇÃO DE DIFERENTES FARINHAS DA CASCA DO PERICARPO DO MARACUJÁ-AMARELO.

A farinha PAS foi submetida a dois processos: [1] maceração com etanol em ebulição 96 °GL sob refluxo durante 30 minutos (razão 1:50 w/v), seguida de filtração em tecido, resultando em sólidos insolúveis em etanol, codificada como AIS (Yapo and Koffi, 2006); [2] aquecimento em autoclave em condições semelhantes às utilizadas para esterilização (pressão de 1 bar, 121 °C, 15 min), codificada como AUT. Ambas as farinhas foram acondicionadas em sacos de tecido sintético, centrifugadas a 2300 rpm (centrífuga adaptada Arno modelo Classic) e desidratadas a 60 °C em estufa de circulação de ar até massa constante.

Duas diferentes farinhas comerciais de casca de maracujá foram adquiridas em estabelecimento farmacêutico da cidade de Ponta Grossa e codificadas como COM1 e COM2.

Ao total, foram produzidas cinco farinhas matérias-primas para extração ácida de pectina, codificadas como: AIS, AUT, COM1, COM2 e PAS. Todas as farinhas foram trituradas em moinho de facas e tamisadas através de peneira com abertura dos poros de 250 µm de diâmetro (60 MESH), sendo armazenadas em frascos hermeticamente fechados antes da extração de pectina.

5.3.2 Extração de pectina

Para efeitos de comparação entre as diversas matérias-primas, as condições de extração foram: 25 minutos, a 80 °C, com concentração final de ácido nítrico de 50mM, razão final sólido-líquido 1:50 (w/v), de acordo com protocolo já descrito (Figura 18, Apêndice 1), modificado de SCABIO *et al.* (2007) e FERTONANI *et al.* (2009).

5.3.3 Análises nas farinhas de pericarpo de maracujá-amarelo

A umidade por secagem direta das amostras em estufa a 105 °C até massa constante pelo método 012/IV (IAL, 2008) e os compostos fenólicos totais pelo método Folin-Ciocalteu modificado (SINGLETON *et al.*, 1999). A quantificação do metanol na farinha de mesocarpo liofilizado sem qualquer tratamento térmico e nas farinhas PAS e AIS, com tratamento térmico para detecção de atividade enzimática, foi realizada por cromatografia a gás acoplada à espectroscopia de massa (GC-MS) (RENARD; GINIES, 2009), depois de saponificação, a temperatura de 30 °C. Adicionou-se 3,95 mL de água a cerca de 200 mg de cada farinha, mais 1mL de pectina cítrica (10mg mL⁻¹) e 50 µL de CD₃OH, para um volume total de 5 mL. Foram registrados e avaliados dez resultados para cada amostra, com intervalo de 21 minutos entre cada leitura.

5.3.4 Análises da pectina extraída de farinhas de pericarpo de maracujá-amarelo

O grau de esterificação foi determinado segundo metodologia adaptada de BOCHEK; ZABILOVA; PETROPAVLOSVSKII (2001).

Para a dosagem do teor de ácido urônico, foi utilizado o método colorimétrico com metahidroxidifenil (INRA, 2009b; BLUMENKRANTZ E ASBOE-HANSEN, 1973).

O teor em monossacarídeos neutros foi estimado por cromatografia a gás após hidrólise das amostras e derivatização em alditóis (SLONEKER, 1972; INRA, 2009a).

A concentração molar de metanol foi determinada no espaço confinante (usualmente denominado *headspace*) por cromatografia a gás acoplada à

espectroscopia de massa (GC-MS) (RENARD; GINIES, 2009), depois de saponificação. O grau de metilação foi estimado pela razão molar entre a concentração de metanol e de ácido galacturônico.

A viscosidade reduzida foi calculada a partir do valor absoluto de viscosidade cinemática obtido pelo tempo de escoamento de pectina solubilizada em amostra salina 10 g L^{-1} (YAPO; KOFFI, 2006), filtradas através de membrana de acetato de celulose (Milipore- $0,45 \text{ }\mu\text{m}$), em viscosímetro capilar Schoot (capilar nº100, tipo 51310 Cannon-Fenske, Constant $k=0,015$), imerso em termostato transparente CT-52 a $25 \pm 1 \text{ }^{\circ}\text{C}$. Para estimativa da viscosidade aparente, as amostras foram solubilizadas em água deionizada (10 g L^{-1}) e permaneceram a $50 \text{ }^{\circ}\text{C}$ em estufa até completa dissolução (24-48 horas). A análise foi executada em um viscosímetro Brookfield Model DV-II + PRO (Brookfield Engineering Labs. Inc., Middleboro, MA, U.S.A.), utilizando um eixo (*spindle*) SC4-21 ($16,77 \text{ mm}$ diâmetro; $35,15 \text{ mm}$ de comprimento efetivo) e um adaptador para pequenas amostras ($19,05 \text{ mm}$ de diâmetro; $64,77 \text{ mm}$ de profundidade) a $45,0 \pm 0,5 \text{ }^{\circ}\text{C}$. Esse adaptador estava conectado por mangueiras ao banho-maria de mesma marca. Cerca de $8 \text{ g} \pm 0,1$ de cada amostra foram adicionados à câmara metálica do adaptador, permanecendo em repouso até equilíbrio da temperatura antes do início da medida. A velocidade do eixo (*spindle*) foi fixada em 200 rpm . O registro dos dados foi feito em computador ligado ao sistema e interpretados por meio do software Rheocalc, a cada trinta segundos por três minutos e as médias dos onze valores obtidos foram calculadas.

O perfil da massa molar por cromatografia de permeação em gel foi conduzido por cromatografia de exclusão estérica de alta pressão (HPSEC) em um sistema HPLC Varian 9050/9010 equipado com coluna TSK-Gel GMPW ($30 \text{ cm L} \times 7,8 \text{ mm ID}$; TosoH Corporation, Japão) em combinação com uma coluna TSK-Gel PX_{XL} ($40 \times 6 \text{ mm}$) a $35 \text{ }^{\circ}\text{C}$ e acoplado a um refratômetro Varian RI-4. O eluente foi tampão acetato de sódio/ ácido acético, pH 3,6, também utilizado como solvente das amostras. Tanto as dispersões de pectina (15 g L^{-1} , adicionadas de glucose na concentração $1,5 \text{ g L}^{-1}$) quanto o solvente foram filtrados através de membranas (Phenex RC $0,45 \text{ }\mu\text{m}$). A eluição foi aproximadamente $0,8 \text{ mL min}^{-1}$ e $20 \text{ }\mu\text{L}$ de cada amostra foram injetados no sistema. Uma curva de calibração foi construída com padrões de dextrana. As massas molares de cada dextrana e da glucose, bem como o tempo respectivo de eluição para essa coluna estão apresentados na Tabela 9.

TABELA 9-PADRÕES UTILIZADOS PARA CROMATOGRAFIA DE PERMEAÇÃO EM GEL E RESPECTIVOS VOLUMES DE ELUIÇÃO NO SISTEMA.

| | Massa molar indicada (g mol^{-1}). 10^3 | volume de eluição (min) |
|------|--|-------------------------|
| T500 | 526400 | 9,1 |
| T70 | 74800 | 9,9 |
| T40 | 36800 | 10,4 |
| T10 | 10100 | 11,2 |
| Glc | 180 | 13,3 |

Todos os dados foram apresentados em função do parâmetro de partição K_{av} , segundo a equação:

$$K_{av} = (V_e - V_0) / (V_t - V_0)$$

Equação 7

onde:

V_e = volume de eluição de cada amostra; V_0 = volume de exclusão ou volume “morto” da coluna, estabelecido em função do tempo de eluição da dextrana T 500 (Pharmacia LKB Biotechnology) e V_t = volume total da coluna, obtido a partir do tempo de eluição da glucose (Merck). Os valores de K_{av} devem estar compreendidos entre 0 e 1 e o tempo de eluição das amostras preferencialmente deve estar entre esses valores.

5.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 10 estão indicados alguns resultados das análises realizadas nos cinco tipos de matérias-primas comparadas nesse capítulo. A umidade da farinha foi determinada para calcular o rendimento real de pectina extraída em base seca.

TABELA 10-COMPOSTOS FENÓLICOS TOTAIS, UMIDADE DA MATÉRIA-PRIMA E RENDIMENTO RESPECTIVO DA PECTINA EXTRAÍDA.

| Amostras | Compostos fenólicos (g kg^{-1}) | Umidade (%) | Rendimento de pectina (g kg^{-1})* |
|----------|---|----------------|--|
| AUT | 7.0 | 8,7 | 232,6 |
| AIS | 3.2 | 8,2 | 164,9 |
| COM2 | 4.3 | 7,3 | 108,5 |
| COM1 | 4.8 | 8,4 | 152,6 |
| PAS | 5.20 | 8,4 | 203,4 |
| DP | 0.608 | 0,340 | 7,921 |

DP= desvio-padrão das médias, mínimo n=3, intervalo de confiança 0.95, graus de liberdade= 14; AUT e AIS- mesocarpo de variedades *flavicarpa* com segundo tratamento térmico, além do branqueamento; COM2 and COM1- farinhas de casca comercializadas em farmácias; PAS- farinha de mesocarpo produzida no laboratório com branqueamento* Condições de extração: 80 °C, 50 mM de ácido nítrico, 25 min.

A partir dos trabalhos publicados com pectina da casca do maracujá, observa-se que o rendimento da extração, bem como as características dessa

pectina extraída, apresentaram variação de acordo com a matéria-prima e as condições utilizadas para extração.

Os valores encontrados para compostos fenólicos no pericarpo de maracujá foram entre 3-7 g kg⁻¹ (Tabela 10), correspondendo a 0,5-1,0 g kg⁻¹ na matéria-prima fresca com umidade de 85%. Maçãs frescas e cascas de pera apresentaram quantidades de 3-4 g kg⁻¹ em matéria-fresca, também expresso como catequina (ESCARPA; GONZALEZ, 2001). A dissolução de compostos fenólicos no etanol eliminou parte dos compostos fenólicos na farinha AIS antes da filtração, bem como resultou numa pectina visualmente mais clara.

A média de pectina extraída foi de 172 ± 42 g kg⁻¹. Estes valores foram mais altos que a soma de pectina aquosa e ácida (142 g kg⁻¹) extraída de pericarpo de maracujá amarelo da Costa do Marfim, usando condições mais severas em extração sequencial (YAPO; KOFI, 2006). Kliemann *et al.* (2009) registraram rendimentos entre 89-277 g kg⁻¹ na extração também com ácido nítrico de matéria-prima similar. O rendimento mais baixo entre as amostras de bancada analisadas foi obtido da farinha AIS comparada à PAS, confirmando que o tratamento alcoólico pode tornar a extração de pectina mais difícil, especialmente se a secagem não for cuidadosamente controlada, em função de que pontes de hidrogênio entre alguns constituintes podem ser reforçadas (THIBAUT *et al.*, 1991; VORAGEN *et al.*, 1995).

A autoclavação na matéria-prima, tratamento térmico severo em condições de vapor saturado, aumentou o rendimento da extração, provavelmente devido à hidrólise das ligações entre os componentes da parede celular, permitindo melhor solubilização das substâncias pécticas. Essa matéria-prima autoclavada, bem como a pectina extraída, estavam visualmente escurecidas, segundo Bimbenet *et al.* (2002), possivelmente devido à reação de Maillard. Oosterveld *et al.* (1996) hipotetizaram que alguma quebra pode ocorrer, provavelmente causada pela beta-eliminação, relacionada aos polissacarídeos pécticos em extrato autoclavado.

Num primeiro momento, atividade de pectina metil esterase foi detectada por cromatografia a gás em mesocarpo liofilizado sem tratamento térmico, a partir da liberação crescente de metanol, acompanhada durante duas horas de incubação com dispersão de pectina em água a 45 °C. Isso poderia justificar o rendimento mais baixo das farinhas comerciais (COM1 e COM2), provavelmente relacionado às

condições desfavoráveis de armazenamento da casca após o processamento para produção de suco, que segundo May (1990) e Thakur, Singh e Handa (1997) favorece o desenvolvimento de fungos produtores de enzimas pécnicas exógenas, bem como a atividade de enzimas endógenas, em casca sem tratamento térmico (MAY, 1990; THAKUR ; SINGH ; HANDA, 1997).

Em seguida, um experimento foi elaborado durante cerca de 3 horas (193 minutos) para cada amostra. Foram avaliados os teores de metanol liberados a partir da razão da área do pico de metanol pelo metanol deuterado, em função da desesterificação da pectina adicionada, promovida pela ação enzimática. A partir da equação da reta $y=1,7584x + 0,0364$ e $R^2= 0,9997$, foram obtidos os valores de metanol liberado com relação ao tempo de incubação (Figura 23).

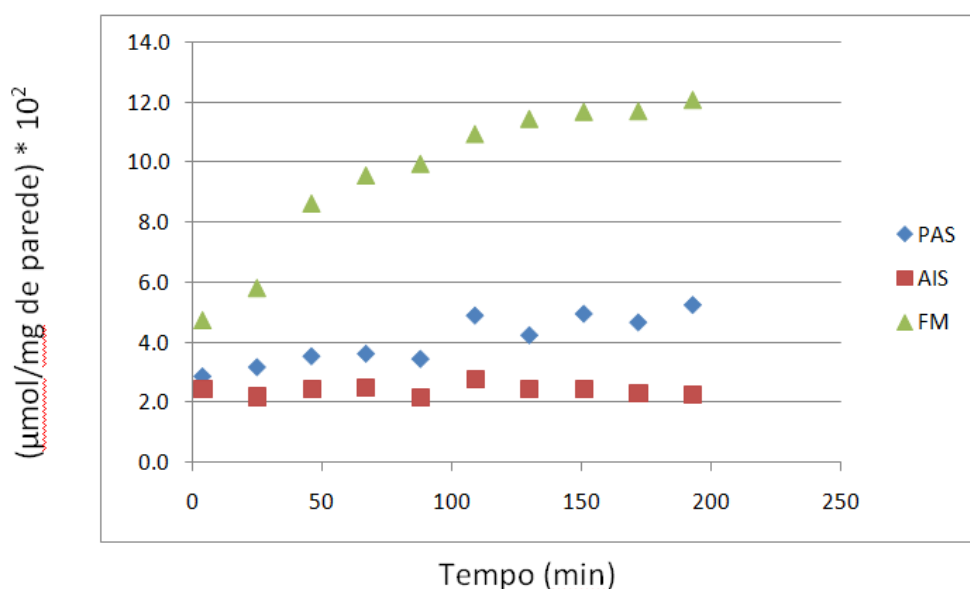


FIGURA 23-LIBERAÇÃO DE METANOL DE FARINHAS DE MARACUJÁ SUBMETIDAS A DIFERENTES TRATAMENTOS TÉRMICOS.

Na amostra AIS, aquecida com etanol em ebulição, o teor de metanol se manteve praticamente estável, durante todo o período de análise (entre 2,2 a 2,8 $\mu\text{mol mg}^{-1} \cdot 10^{-2}$ de parede celular, com oscilação) , indicando que não houve atividade enzimática para liberação do metanol da cadeia pécica. Na amostra PAS, submetida ao branqueamento, houve leve atividade crescente (2,9 a 5,2 $\mu\text{mol mg}^{-1} \cdot 10^{-2}$ de parede celular) se comparada à amostra AIS, mas que se estabiliza rapidamente. Isso pode indicar a manutenção de teores mínimos dessa enzima nas condições experimentais de branqueamento utilizadas. A amostra liofilizada apresentou liberação crescente de metanol mais intensa (4,7 a 12,1 $\mu\text{mol}^{-1} \text{mg} \cdot 10^{-2}$

de parede celular) relacionada à desesterificação promovida por pectina metil esterase endógena, visto que a farinha apresentava baixo teor de umidade, desfavorável ao desenvolvimento de fungos produtores de enzimas exógenas.

A pectina da casca do maracujá-amarelo das farinhas analisadas foi caracterizada como de alta metoxilação, com média de 72%, por titulação e com média de 66%, segundo grau de metilação obtido a partir de cálculo. Considerando matéria-prima similar, esse resultado está de acordo com Pinheiro *et al.* (2007) na extração com ácido cítrico. Entretanto, o grau de esterificação obtido por Yapó e Koffi (2006) foi mais baixo, provavelmente associado com a diversidade geográfica e condições de extração. Quanto às pectinas extraídas das farinhas comerciais, o grau de esterificação foi menor, provavelmente devido também às mesmas causas citadas para o menor rendimento associadas à atividade enzimática endógena da matéria-prima. Os dados experimentais obtidos para os valores de esterificação, viscosidades e perfil de massa molar estão apresentados na Tabela 11.

TABELA 11-PARÂMETROS QUALITATIVOS DE PECTINAS DO PERICARPO DE MARACUJÁ AMARELO*.

| AMOSTRA | DE (%) | DM (%) | η_{red} 0.1% (dL g ⁻¹) | η_{app} 1% (Pa s 10 ³) | pH** | Tempo de eluição (min) | Mw (g mol ⁻¹) |
|---------|--------|--------|---|---|-------|------------------------|---------------------------|
| AUT | 76 | 57 | 2,0 | 9,1 | 3,1 | 9,7 e 10,8 | 80.000 |
| AIS | 68 | 64 | 8,9 | 34,2 | 4,1 | 9,7 e 10,4 | 91.000 |
| COM2 | 77 | 56 | 2,2 | 8,6 | 3,4 | 10,5 | 32.000 |
| COM1 | 60 | 57 | 2,3 | n.d. | 3,3 | 10,1 | 68.000 |
| PAS | 80 | 80 | 6,8 | 13,4 | 3,4 | 9,4 | 301.000 |
| DP | 1,586 | 0,045 | 0,1054 | 1,089 | 0,133 | *** | *** |

*condições de extração : 80° C, 20 minutos e 50 mM de ácido nítrico **dispersão 1%; ***não se aplica para este parâmetro DP= desvio-padrão da média, mínimo de três repetições, intervalo de confiança 0.95, graus de liberdade=14; n.d.- viscosidade baixa e não capaz de ser registrada pelo equipamento; DE= grau de esterificação; DM= grau de metilação; η_{red} = viscosidade reduzida; η_{app} =viscosidade aparente; Mw= massa molar.

As pectinas extraídas das farinhas autoclavada e comerciais (AUT, COM2 e COM1) apresentaram viscosidades reduzidas similares, menores que para pectinas das farinhas PAS e AIS. A pectina da farinha AIS apresentou maiores viscosidades que outras amostras, o que pode estar associado com a massa molar, como será discutido a seguir. Morris *et al.* (2008) mostraram valores de viscosidade capilar entre 3 e 6 dL g⁻¹ para amostras comerciais de pectinas cítricas com graus de esterificação variados.

A viscosidade aparente das pectinas PAS e AIS foi bastante elevada. Isso pode estar relacionado à dissolução desses polieletrólitos em água e não em

solução salina. A força iônica total da dispersão deve ser mantida constante durante a diluição, o que se consegue com diluição isotônica da pectina em solução salina (THIBAUT *et al.*, 1991). Na sessão seguinte, a viscosidade aparente foi determinada em dispersões salinas na concentração de 3%.

Neste estudo, o processo de autoclavação, aplicado com o objetivo de conhecer a influência da temperatura sobre a matéria-prima antes da extração, reduziu ambas as viscosidades dessa pectina com relação à amostra controle (PAS).

Outra justificativa para a redução da viscosidade pode estar relacionada à irradiação à qual a farinha da casca do maracujá pode ser submetida, para segurança microbiológica adicional antes da comercialização, citada por algumas produtoras brasileiras nas embalagens. Ayyad, Hassanien e Ragab (1990) indicaram haver significativa queda na viscosidade de pectinas submetidas à irradiação.

O volume de exclusão (V_o) e o volume total da coluna (V_t) foram 9,1 e 13,3 min, respectivamente. A partir dos volumes de cada amostra, uma curva de calibração foi elaborada (Figura 24) para estimar a massa molar aproximada de cada pectina, com os valores de K_{av} e logaritmo da massa molar, com $R^2=0.9962$. Os valores obtidos de massa molar são relativos e comparativos entre as amostras de pectina e não devem ser considerados absolutos, visto ser a dextrana utilizada como padrão.

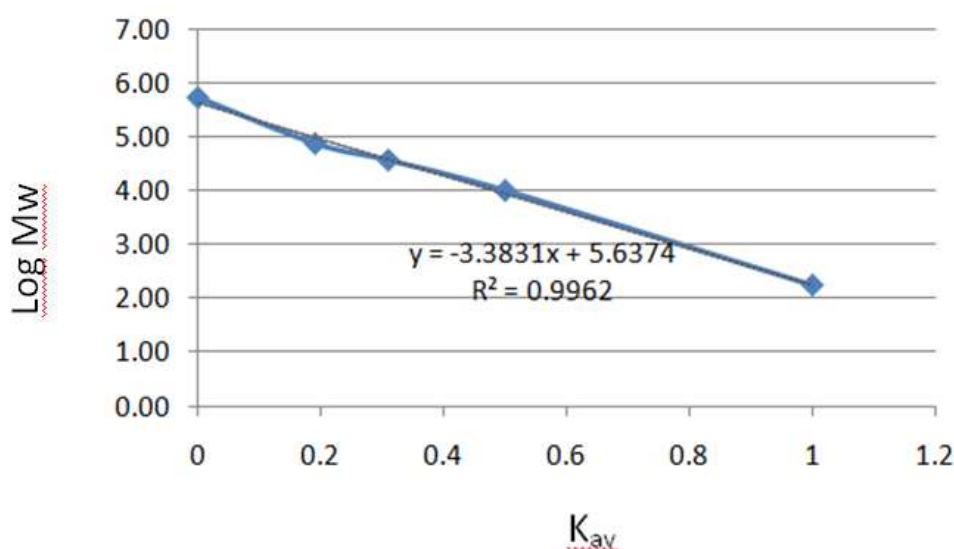
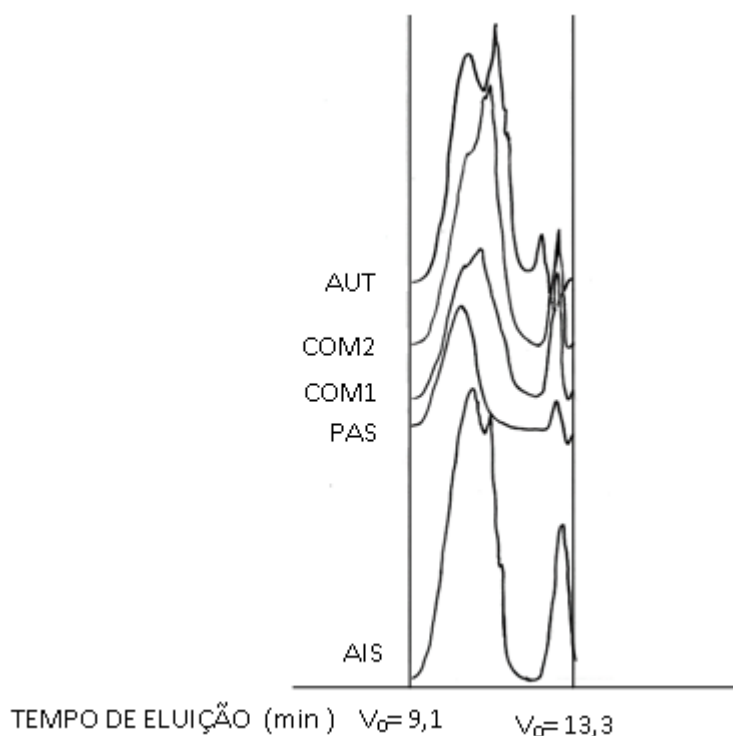


FIGURA 24-CURVA DE CALIBRAÇÃO PARA CROMATOGRAFIA DE PERMEÇÃO TSK-GEL GMPW COM PADRÕES DE DEXTRANA E GLUCOSE.

Na Figura 25 estão apresentadas as curvas do perfil de massa molar obtidos pelo método HPSEC.



AUT E AIS-MESOCARPO COM SEGUNDO TRATAMENTO TÉRMICO; COM2 E COM1-FARINHAS COMERCIAIS DE CASCA; PAS-MESOCARPO DE BANCADA "BRANQUEADO".

FIGURA 25-PERFIS DE ELUIÇÃO POR CROMATOGRAFIA DE EXCLUSÃO ESTÉRICA DE ALTA PRESSÃO (HPSEC) DE AMOSTRAS DE PECTINA EXTRAÍDA DE FARINHAS DE CASCA DE MARACUJÁ-AMARELO

Foi evidenciada a presença de dois picos nas amostras das pectinas AIS e AUT. Visto que foram utilizadas as mesmas condições de extração das pectinas neste trabalho, evidencia-se a partir disso a clara influência do estado da matéria-prima na massa molar. As pectinas das amostras comerciais e autoclavadas eluíram mais tarde com relação à pectina da farinha de bancada PAS. Essa pectina da farinha submetida ao branqueamento mostrou alta viscosidade por ambos os métodos e apresentou um pico único de eluição anterior às outras pectinas, indicativo de elevada massa molar e homogeneidade dessa amostra. Embora a massa molar da pectina da farinha AIS não esteja diretamente relacionada às elevadas viscosidades encontradas para essa amostra, deve-se considerar que o valor calculado é apenas uma estimativa aproximada, mas não exata para pectinas, devido ao fato do uso de padrões de dextrana para a construção da curva de calibração, visto que cadeias pécnicas com massa molar conhecida não são

facilmente disponíveis. A massa molar foi obtida a partir da média do tempo de eluição de dois picos. Isso não é aconselhado, pois o método HPSEC não permite estabelecer com exatidão a proporção dessas cadeias. A média aproximada da massa molar para as pectinas estudadas permaneceu entre 32.000 e 299.000 g mol⁻¹. Pectinas comerciais apresentam massa molar entre 35.000-180.000 g mol⁻¹ (THIBAUT; PETIT, 1979; MORRIS *et al.*, 2008). Para amostras com único pico, a viscosidade foi inversamente proporcional ao Kav e isso confirma que a viscosidade está em direta relação com os perfis de volume molar obtidos por HPSEC, como descrito por Bondu (1986). Este autor concluiu que, para uma série de moléculas similares de pectina, quanto maior a massa molar, maior o volume hidrodinâmico e mais elevada a viscosidade intrínseca.

Os teores médios dos principais açúcares encontrados nas pectinas isoladas estão apresentados na Tabela 12, sendo a concentração aproximadamente 75% nas amostras analisadas. Esse valor está na faixa reportada de 68-78% para pectina extraída da casca de maracujá-amarelo, com ácido nítrico (YAPO; KOFFI, 2006 e YAPO, 2009).

TABELA 12-TEORES MÉDIOS DOS PRINCIPAIS AÇÚCARES DE PECTINAS DE MARACUJÁ (mg g⁻¹).

| AMOSTRA | AUA | Rha | AUA/ Rha** | Gal | Glc | TAN |
|---------|--------|-------|---------------|-------|-------|-------|
| AUT | 916 | 3 | 44 | 8 | 9 | 33 |
| AIS | 866 | 7 | 35 | 10 | 9 | 44 |
| COM2 | 723 | 5 | 24 | 13 | 26 | 69 |
| COM1 | 592 | 4 | 22 | 13 | 28 | 79 |
| PAS | 681 | 4 | 28 | 11 | 16 | 47 |
| DP | 62,069 | 0,956 | *** | 1,733 | 1,700 | 6,919 |

DP= desvio-padrão da média, mínimo de três repetições, intervalo de confiança 0,95; graus de liberdade= 14, AUA= ácido urônico; Rha ramnose; Gal= galactose; Glc=glucose; TAN=total de açúcares neutros.

A concentração de ácido urônico das amostras analisadas variou amplamente entre as amostras (702-916 mg g⁻¹). O valor encontrado para a amostra AUT foi mais alto que o esperado, provavelmente porque contém moléculas reativas (compostos escuros), que interferem no método colorimétrico, superestimando os valores. Uma das amostras da farinha comercial (COM1) apresentou somente 59% de ácidos urônicos. Esse valor é mais baixo que o mínimo estipulado para ser considerada pectina, de acordo com a FAO e EU (WILLATS; KNOX; MIKKELSEN, 2006), indicando que essa matéria-prima comercial é inadequada para extração de pectina nessas condições.

Os principais açúcares neutros foram a galactose e a glucose, com valores entre 8-13 mg g⁻¹ e 9-28 mg g⁻¹, respectivamente. Pequenas quantidades de xilose e manose, bem como um pequeno teor de fucose foi detectado. O conteúdo de açúcares neutros estava na faixa de 33-79 mg g⁻¹ e as pectinas extraídas de farinhas comerciais apresentaram maior teor de monossacarídeos neutros que amostras de pectina da farinha produzida no laboratório com diferentes tratamentos térmicos. Isso pode indiretamente indicar a hidrólise da cadeia de homogalacturonana por enzimas pectinolíticas reduzindo a quantidade relativa de ácido galacturônico. A pectina AIS foi obtida de matéria-prima macerada com etanol a quente e apresentou teor mais elevado de ramnose e açúcares totais que a amostra da farinha PAS. Isso pode evidenciar que esses açúcares neutros são constituintes das cadeias laterais e não contaminantes carregados no processo de isolamento da pectina por precipitação etanólica. A razão molar entre ácido urônico e ramnose (GalA/Rha), um indicador da proporção dos blocos no polímero, permaneceu entre 22-44, de acordo com dados recentemente publicados (14-35) para casca de maracujá-amarelo (YAPO, 2009a), sugerindo que essas amostras de pectina consistem principalmente de regiões lineares de ácido galacturônico.

5.5 CONCLUSÃO

Os valores de viscosidade e o perfil molecular de pectinas extraídas de farinhas comerciais mostraram diferenças com relação às farinhas produzidas em bancada, que podem estar relacionadas com a desidratação e armazenamento das matérias-primas. Esses resultados corroboram que a composição de resíduos agroalimentares é extremamente variável dependendo da natureza do produto, das técnicas de produção empregada (KROYER, 1995) e da qualidade da matéria-prima, a qual apresenta um efeito significativo no custo do processamento e nas características do produto (MAY, 1990).

Farinhas branqueadas de maracujá-amarelo resultam em 203,4 g kg⁻¹ de pectina, com conteúdo de GalA de 681 mg g⁻¹, DM e DE de 80, viscosidade reduzida de 6,8 dL g⁻¹ e viscosidade aparente de 13,4 Pa s 10³ para dispersão aquosa 1%. A autoclavação e a maceração com etanol a quente promoveram redução significativa na massa molar (cerca de três vezes) e ligeira queda no teor de esterificação

(próximo a 20%), indicando que tratamentos térmicos severos na matéria-prima interferem na qualidade da pectina extraída.

Pelo contrário, matéria-prima sem qualquer tratamento térmico favorece a degradação da pectina, em função de que atividade enzimática pectinolítica foi detectada a partir da liberação crescente de metanol em mesocarpo fresco liofilizado, indicando a necessidade de branqueamento da matéria-prima.

O uso de matéria-prima cuidadosamente manipulada com diferentes condições de extração ainda se mostra a rota mais interessante para alcance de muitas propriedades físicas e químicas requeridas para as aplicações comerciais.

6. EXTRAÇÃO COMPARATIVA DE PECTINAS: ALBEDO DE MARACUJÁ X ALBEDO CÍTRICO E BAGAÇO DE MAÇÃ

Artigo correspondente: Analytical comparison of pectins from three different Brazilian raw materials.

6.1 FONTES USUAIS DE EXTRAÇÃO: ALBEDO CÍTRICO E BAGAÇO DE MAÇÃ

O teor em substâncias pécticas varia de acordo com a origem botânica do produto vegetal, sendo quatro subprodutos de indústrias agrícolas e alimentares ricos em substâncias pécticas (teor superior a 15% em base seca): bagaço de maçã, albedo cítrico, polpa de beterraba e capítulos de girassol (THIBAULT, 1980). O albedo cítrico e o bagaço de maçã são as maiores fontes da pectina extraída enquanto outras fontes valiosas potenciais permanecem não usuais em função de certas propriedades estruturais indesejáveis (WILLATS; KNOX; MIKKELSEN, 2006, DANIELLS, 2008). A maior parte da pectina usada pela indústria de alimentos é originária dessas matérias-primas, sendo extraída em condições fracamente ácidas e em alta temperatura, resultando primariamente em cadeias de homogalacturonana (VORAGEN *et al.*, 2009). Na Tabela 13 estão indicados os resultados médios comparativos de alguns parâmetros químicos de pectinas comerciais extraídas das fontes convencionais utilizadas pela indústria.

TABELA 13-COMPOSIÇÃO APROXIMADA DE PECTINAS COMERCIAIS TÍPICAS.

| Componente | Cítricas | Maçã |
|-------------------------|---------------------------------|-------------------------|
| Acido galacturônico | 76,4-77,1 | 60,8 |
| Grupos metoxila | 4,4 (71,5-72,1) ^a | 3,6 (74,3) ^a |
| Grupos acetila | 0,26-0,3 (1,4-1,6) ^b | 0,72 (5,0) ^b |
| Açúcares neutros totais | 8,5-9,2 | 27,0 |
| Proteínas | 3,0-3,3 | 1,6 |
| Fenóis Totais | 0,15-0,18 | 0,59 |
| Cinzas | 1,96-2,38 | 1,89 |
| Total | 95,1-96,3 | 95,9 |

^a Valores entre parênteses correspondem ao grau de metilação. ^b Valores entre parênteses correspondem ao grau de acetilação.

FONTE: VORAGEN *et al.*, 1995.

6.2 PECTINAS DE MATÉRIAS-PRIMAS ALTERNATIVAS

Pesquisas com fontes convencionais como bagaço de beterraba, frutas cítricas, pera e maçã, cada vez são aprofundadas, com relação à extração e aos

propósitos de elucidar aspectos diversos tecnológicos ou estruturais (MESBAHI; JAMALIAN; FARAHNAKY, 2004; IGLESIAS; LOZANO, 2004; FARAVASH; ASHTIANI, 2008; FERTONANI *et al.*, 2006; SCABIO *et al.*, 2007; YAPO *et al.*, 2007a; YAPO *et al.*, 2007b, TAMAKI *et al.*, 2008, FERTONANI *et al.*, 2009).

Existem recentes publicações científicas sobre extração de substâncias pecticas de matérias-primas alternativas. Entre essas podem ser citadas os frutos de *Chaemomeles japonica* ou marmelo do Japão (THOMAS *et al.*, 2003), as folhas do *Krueo Ma Noy*, uma planta trepadeira nativa da Tailândia (SINGTHONG *et al.*, 2004; SINGTHONG *et al.*, 2005), o pericarpo de ambarela (fruta nativa da Polinésia) (KIOBALA *et al.*, 2008a), a casca de manga (KIOBALA *et al.*, 2008b), o repolho (WESTERENG *et al.*, 2008), as cascas de banana (EMAGA *et al.*, 2008) e o resíduo de cacau (MOLLEA; CHIAMPO; CONTI, 2008). E finalmente, a casca de maracujá tem sido estudada como fonte alternativa de extração de pectina, como já citado no item 4.1.5.

Devido à capacidade de geleificação depender do tamanho molecular e grau de esterificação, pectinas de diferentes fontes não apresentam a mesma habilidade de formação de gel em função das variações nestes parâmetros. Em consequência, a detecção de uma larga quantidade de pectina em uma fruta não é suficiente para qualificá-la como fonte comercial de pectina. Novas fontes potenciais permanecem não usuais em função de certas propriedades estruturais indesejáveis ((THAKUR ; SINGH ; HANDA, 1997; WILLATS; KNOX; MIKKELSEN, 2006).

6.3 TRATAMENTO DOS DADOS POR ANÁLISE MULTIVARIADA

O aperfeiçoamento eletrônico dos instrumentos permite a medida de um grande número de variáveis em uma única amostra. Para tratamento e extração de informações relevantes dessa quantidade de dados, novas ferramentas foram criadas para análise de dados químicos de natureza multivariada, dando origem à Quimiometria. A análise de componentes principais (PCA, do inglês, principal component analysis), consiste em reduzir a dimensionalidade de um conjunto de dados com muitas variáveis correlatas mantendo tanto quanto possível a variação presente nesse conjunto. Isso se alcança pela transformação em um novo grupo de

variáveis, as componentes principais, não correlatas, às quais são ordenadas de tal forma que a primeira retenha a maioria da variação presente em todas as variáveis originais e a natureza multivariada dos dados permita sua visualização em poucas dimensões (FERREIRA *et al.*, 1999; JOLLIFE, 2002). É comum obter em apenas duas ou três variáveis mais de 90% da informação estatística presente nas variáveis originais. Essa análise também permite julgar a importância das próprias variáveis originais escolhidas (MOITA NETO; MOITA, 1998).

6.4 OBJETIVO

- Comparar a composição da pectina extraída do albedo de maracujá-amarelo com a de fontes usuais de extração (albedo cítrico e bagaço de maçã).

6.5 MATERIAL E MÉTODOS

6.5.1. Obtenção de farinhas matéria-prima

Cerca de 10 kg de frutas de laranja Pera e maracujá-amarelo foram descascados, sendo a casca (exocarpo), o endocarpo e a polpa direcionados para outros experimentos. O mesocarpo foi submetido ao branqueamento, sendo imerso em água em ebulição durante três minutos, seguido de resfriamento em banho de gelo. Após eliminação do excesso de água por centrifugação, o mesocarpo foi desidratado a 60 °C em estufa de circulação de ar, até massa constante (cerca de dezoito horas), e triturado em moinho de facas (Figura 17).

Para produção da farinha de bagaço de maçã, frutos de maçãs da variedade Catarina foram doados pela Estação Experimental de Caçador e de São Joaquim da Empresa de Pesquisa Agrícola e de Extensão Rural de Santa Catarina – EPAGRI. A obtenção do bagaço desidratado de maçã foi concomitante ao processamento do suco. Uma vez finalizada a prensagem da massa ralada, o bagaço de maçã foi beneficiado por tratamento aquoso, (1L kg⁻¹) durante 20 minutos à temperatura ambiente, seguido de centrifugação até esgotamento total do líquido, a fim de eliminar os componentes solúveis presentes nas superfícies dos fragmentos. Essa massa foi levada à estufa de circulação de ar para desidratação a temperatura de 60

°C, até massa constante. O produto desidratado foi fragmentado em moinho de facas.

As farinhas foram tamisadas através de peneiras com orifícios de 250µm (60 MESH), embaladas e armazenadas em frascos hermeticamente fechados a temperatura ambiente.

6.5.2. Condições de extração de pectina

Para efeitos de comparação das matérias-primas de diferentes fontes vegetais sobre as características da pectina extraída, o protocolo geral de extração e isolamento seguiu a metodologia de Scabio *et al.* (2007) e Fertoni *et al.* (2009), esquematizado na Figura 18. . As condições utilizadas para a extração foram 80 °C, 25 minutos, 50 mM de ácido nítrico e razão soluto/solvente 1:50.

Adicionalmente, foi feita extração de uma amostra de pectina a partir do mesocarpo de maracujá-amarelo sem adição de ácido nítrico, a frio. A farinha respectiva foi adicionada de água destilada, numa razão 1:50, permanecendo sob temperatura de refrigeração durante a noite.

O isolamento da pectina do extrato, após filtração em tecido sintético, foi feito por precipitação etanólica a frio (4° C), com dois volumes de etanol 96° GL. As amostras de pectina isoladas sob a forma de gel, foram rinsadas com etanol 96°GL durante a noite e acetona por alguns minutos, seguidas de prensagem em tecido sintético e desidratação em estufa 40° C até massa constante (Figura 18).

6.5.3 Caracterização da pectina

As amostras de pectina, obtidas por extração ácida a quente, receberam a seguinte codificação: FLP para albedo cítrico, PAS para albedo de maracujá e CAT para bagaço de maçã. A pectina de albedo de maracujá extraída a frio sem adição de ácido foi codificada como FAG.

O grau de esterificação foi determinado segundo metodologia adaptada de BOCHEK; ZABILOVA; PETROPAVLOVSKII (2001).

Para a dosagem do teor de ácido urônico, foi utilizado o método colorimétrico com metahidroxidifenil (INRA, 2009b; BLUMENKRANTZ E ASBOE-

HANSEN, 1973). A concentração molar de metanol foi determinada no espaço confinante (usualmente denominado *headspace* por cromatografia a gás acoplada à espectroscopia de massa (GC-MS) (RENARD; GINIES, 2009), depois de saponificação. O grau de metilação foi estimado pela razão molar entre a concentração de metanol e de ácido urônico. O teor em monossacarídeos neutros foi estimado por cromatografia a gás após hidrólise das amostras e derivatização em alditóis (SLONEKER, 1972; INRA, 2009a).

A viscosidade reduzida foi calculada a partir do valor absoluto de viscosidade cinemática, obtido pelo tempo de escoamento de pectina solubilizada em amostra salina 10 g L^{-1} (YAPO; KOFFI, 2006), filtradas através de membrana de acetato de celulose (Milipore-0,45 μm), em viscosímetro capilar Schoot (capilar n.º100, tipo 51310 Cannon-Fenske, Constant $k=0,015$), imerso em termostato transparente CT-52 a $25 \pm 1 \text{ }^{\circ}\text{C}$. Para estimativa da viscosidade aparente, as amostras (30 g L^{-1}) foram solubilizadas em solução salina (YAPO; KOFFI, 2006) e permaneceram a $50 \text{ }^{\circ}\text{C}$ em estufa até completa dissolução (24-48 horas). A análise foi executada em um viscosímetro Brookfield Model DV-II + PRO (Brookfield Engineering Labs., Inc., Middleboro, MA, U.S.A.), com eixo (*spindle*) SC4-21 (16,77 mm diâmetro; 35,15 mm de comprimento efetivo) e um adaptador para pequenas amostras (19,05 mm de diâmetro; 64,77 mm de profundidade) a $45,0 \pm 0,5 \text{ }^{\circ}\text{C}$. Cerca de $8 \text{ g} \pm 0,1$ de cada amostra foram adicionados à câmara metálica do adaptador, permanecendo em repouso até equilíbrio da temperatura antes do início da medida. A velocidade do eixo (*spindle*) foi fixada em 200 rpm. Os resultados de viscosidade aparente foram registrados a cada trinta segundos por três minutos e as médias dos valores obtidos foram calculadas. O registro dos dados foi feito em computador ligado ao sistema e interpretados por meio do software Rheocalc.

Cerca de 50 g das amostras de pectina PAS e FAG, extraídas do albedo de maracujá-amarelo, foram encaminhadas por SEDEX® ao laboratório da empresa Herbstreith & Fox para resultados comparativos e confirmação do grau de esterificação.

6.5.4 Análise multivariada

O modelo exploratório de análise de componentes principais (PCA) foi construído no Programa Pirouette 4.0 (Infometrix), utilizando como fatores os teores

em triplicata dos seguintes açúcares neutros da pectina obtidos por cromatografia a gás (INRA, 2009a) em mg g^{-1} : ramnose, fucose, galactose, xilose, manose, arabinose, glucose e total de monossacarídeos neutros. A matriz de dados a ser explorada foi elaborada com vinte e cinco amostras das pectinas de maracujá, extraídas sob diferentes condições e com diferentes tratamentos da matéria-prima. Nessa matriz, foram incluídas também dezessete amostras de pectina cítrica e onze de pectina de maçã, também obtidas sob condições diversas de tempo, temperatura e concentração de ácido nítrico, bem como cinco amostras das matérias-primas, sendo três de pericarpo de maracujá, uma de albedo cítrico e outra de bagaço de maçã. Dentre os vários pré-processamentos disponíveis, foi selecionado, a partir de ensaios preliminares, o auto-escalamento, a partir da utilização dos oito fatores. A partir dos resultados foram construídos os gráficos dos escores, com as componentes principais (PC) e dos pesos (*loadings*).

6.6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Visto que o albedo cítrico e o bagaço de maçã são as fontes usuais de extração de pectina para finalidade comercial, um dos objetivos dessa tese foi comparar a pectina extraída do albedo de maracujá-amarelo com pectinas obtidas dessas fontes, sob mesmas condições.

6.6.1 Composição comparativa entre as pectinas

Na Tabela 14 estão indicados os resultados de rendimento da extração, teor de esterificação e resultados obtidos por cromatografia de exclusão estérica (HPSEC) em amostras de pectina.

TABELA 14-PARÂMETROS QUALITATIVOS DA PECTINA EXTRAÍDA DOS ALBEDOS DE LARANJA PÊRA E MARACUJÁ-AMARELO E DO BAGAÇO DE MAÇÃ CATARINA.

| Amostras | Rendimento de pectina (g kg^{-1}) | DE (%) | DM (%) | $\eta_{\text{app}} 1\%$ ($\text{Pa s } 10^3$) | Tempo de eluição (min) | Mw aproximado (g mol^{-1}) |
|----------|--|--------|--------|---|------------------------|---------------------------------------|
| CAT* | 102,8 | 76 | 81 | 173 | 9,2 | 360.000 |
| FLP* | 318,3 | 75 | 64 | 118 | 10,3 | 47.000 |
| PAS* | 203,4 | 70 | 82 | 120 | 9,3 | 299.000 |
| FAG** | 57,0 | 80 | 97 | 99 | 9,7 | 142.000 |

CAT-farinha de bagaço de maçã Catarina; FLP- farinha de albedo de laranja Pera; PAS e FAG- farinhas de albedo de maracujá-amarelo (extração ácida a quente e extração sem ácido a frio, respectivamente); *condições de extração : 80° C, 20 minutos e 50 mM de ácido nítrico; **extração a 4°C, *overnight*, sem adição de ácido **** η_{app} = viscosidade aparente.

Na Figura 26 é comparada a aparência entre as pectinas extraídas das diferentes fontes.



FIGURA 26-PECTINA EXTRAÍDA DO ALBEDO CÍTRICO, BAGAÇO DE MAÇÃ E MESOCARPO DE MARACUJÁ-AMARELO (DA ESQUERDA PARA A DIREITA).

Com relação à extração ácida, a farinha de albedo cítrico apresentou o maior rendimento de extração de pectina, confirmando valores entre 30-35% em matéria seca (THIBAUT; PETIT, 1979, THIBAUT, 1980). O rendimento a partir do bagaço de maçã ficou pouco acima do obtido por Scabio e colaboradores (2007) em condições de extração quase similares. O rendimento da pectina de maracujá (203 g Kg^{-1}) está dentro da faixa relatada por outros autores, com um mínimo de 65 g Kg^{-1} (YAPO, 2009a) a um máximo de 277 g Kg^{-1} (KLIEMANN et al., 2009) para extração com ácido nítrico. A pectina extraída com água apresentou rendimento mais elevado que aquele descrito por Yapo e Koffi (2006), 29 g kg^{-1} , obtido a partir de matéria-prima preparada como AIS.

Todas as pectinas extraídas podem ser classificadas como HM. A pectina extraída do albedo cítrico mostrou um DM menor que o DE, indicando indiretamente maior substituição parcial no esqueleto galacturônico por outros grupamentos além do metil, como o acetil, como exemplo.

Para dispersões salinas de pectina na concentração de 10 g L^{-1} , a maior viscosidade foi observada para a pectina extraída do bagaço de maçã, seguida pela de albedo de maracujá, cítrico e em seguida para a pectina extraída com água. A viscosidade está coerente com a massa molar aproximada obtida por exclusão estérica para as amostras CAT e PAS. Entretanto, a amostra FLP apresentou

elevada viscosidade se comparada com baixa massa molar comparativa, indicando haver outros parâmetros interferentes, como presença de grupos acetil ou caráter diferenciado dos açúcares. A amostra FAG, embora com massa molar mais elevada que a amostra FLP, apresentou menor viscosidade aparente relativa. Isso pode ser devido a possíveis resquícios de pectina metil esterase na pectina, ativados durante a solubilização das amostras para análise. A extração ácida a quente normalmente desnatura enzimas que ainda possam estar presentes na matéria-prima e que venham a ser precipitados e incorporados à amostra.

Yapo e Koffi (2006) registraram massa molar relativa mais elevada: 63.000 g mol⁻¹ para pectina extraída com água sem adição de ácido e 51.000 g mol⁻¹ para pectina extraída com ácido nítrico a quente. Yapo (2009a) registrou valores entre 172.000-176.000 g mol⁻¹ para pectina extraída com ácido nítrico a quente.

Na Tabela 15 podem ser encontrados os resultados das análises de açúcares das pectinas analisadas.

TABELA 15-AÇÚCARES DE PECTINAS DO BAGAÇO DE MAÇÃ CATARINA E ALBEDOS DE MARACUJÁ-AMARELO E LARANJA PÊRA (mg g⁻¹)

| Amostra | Rha | Fuc | Ara | Xyl | Man | Gal | Glc | AUA/Rha*** | TAN | AUA |
|---------|------|------|------|------|------|------|------|------------|------|------|
| CAT* | 8 | 2 | 23 | 15 | 1 | 28 | 53 | 4 | 130 | 667 |
| FLP* | 24 | 2 | 25 | 13 | 5 | 60 | 29 | 9 | 170 | 450 |
| PAS* | 4 | 1 | 7 | 6 | 3 | 11 | 16 | 25 | 47 | 828 |
| FAG** | 3 | 2 | 8 | 9 | 5 | 11 | 14 | 23 | 52 | 704 |
| DP | 1.17 | 0.15 | 1.45 | 1.44 | 2.96 | 2.62 | 2.78 | **** | 4.62 | 36.8 |

*condições de extração : 80° C, 20 minutos e 50 mM de ácido nítrico; **extração a 4°C, *overnight*, sem adição de ácido
 *** razão molar ****não se aplica para este parâmetro; Rha= ramnose; Fuc= fucose; Ara= arabinose; Xyl= xilose; Man= manose; Gal= Galactose; Glc= glucose; AUA= ácido urônico; TAN= total de açúcares neutros DP= desvio-padrão das médias com 11 graus de liberdade e $\alpha=0.05$.

O perfil de açúcares da pectina extraída a frio sem adição de ácido e com ácido a quente do maracujá-amarelo mostrou-se bastante similar, com predominância da glucose e galactose como açúcares principais. O teor de monossacarídeos neutros foi menor comparativamente às amostras de pectina cítrica e de maçã. A pectina de maçã apresentou teores mais elevados de arabinose e xilose, além da glucose e galactose. Os teores de galactose e ramnose mostraram-se elevados na pectina cítrica. Esta pectina, nas condições de extração deste trabalho, apresentou apenas 45% de ácido galacturônico, valor inferior ao mínimo para ser comercializada como pectina segundo padrão norte-americano e europeu. A razão molar AUA/Rha foi maior na pectina extraída do albedo de maracujá, próximo aos valores descritos por YAPO (2009a), também em extração com ácido nítrico.

A cópia do e-mail com os resultados das análises realizadas nos laboratórios da empresa Herbstreith & Fox (H & F), na Alemanha, pode ser encontrada no Anexo 4. Os resultados das análises na amostra PAS indicaram grau de esterificação de 74%, pouco acima do resultado encontrado neste trabalho. Outros parâmetros determinados foram o conteúdo de ácido galacturônico de 81,4%; o conteúdo de metil-éster de 9,6%; pH de 2,5 para uma solução de 2,5%; cinzas de 1,3%; umidade de 8,3%; força do gel de 199 USA-SAG, *breaking strength* (força exigida aplicada para romper uma amostra em teste de tensão sob circunstâncias específicas, nesse caso, no pectinômetro da empresa Herbstreith-Fox) de 757 Herbstreith-Pektinometer-Units (HPU) e viscosidade de uma solução 2,5% de 1.111 mPas. A amostra FAG apresentou grau de esterificação de 80%, similar ao encontrado neste trabalho; conteúdo de ácido galacturônico de 78%; o conteúdo de metil-éster de 10%; pH de 4,96 para uma solução de 2,5%; cinzas de 6,3%; umidade de 6,7%; força do gel de 156 USA-SAG, *breaking strength* de 360 HPU e viscosidade de uma solução 2,5% de 576 mPas. Cerca de 1/3 da pectina extraída do albedo de maracujá-amarelo pode ser extraída a frio, sem adição de ácido (FAG). Se considerada a economia de ácido e energia no processo de extração, bem como os resultados de esterificação (Tabela 14, p. 107) e açúcares (Tabela 15, p. 108) similares à pectina extraída com ácido (PAS), poderia ser sugerida alteração econômica no protocolo de produção. Entretanto, a partir dos resultados da Tabela 14, a cadeia se mostrou hidrolisada e com baixa viscosidade aparente relativa.

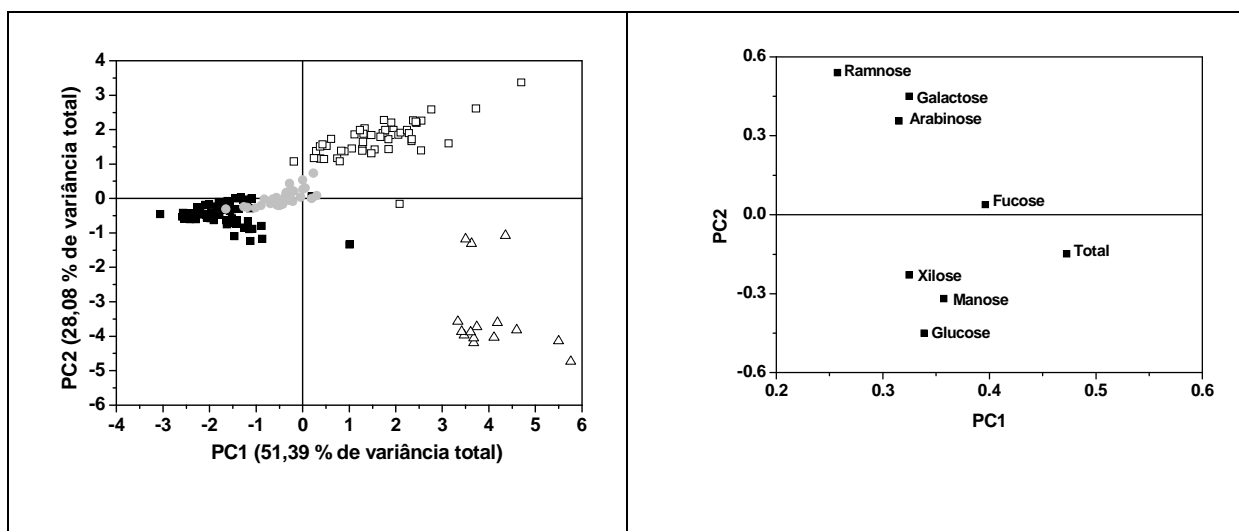
Em ambas as amostras de pectina de maracujá, a presença de amido não foi detectada. A capacidade de geleificação e a viscosidade podem ser subestimadas devido à solubilidade pobre e ao enovelamento das cadeias poliméricas. Do ponto de vista analítico, ambas as amostras de pectina de mesocarpo de maracujá foram classificadas como de muito boa qualidade. As pectinas comerciais são padronizadas a 150 °USA-SAG antes da comercialização.

6.6.2 Análise multivariada aplicada às pectinas e matéria-prima

As médias dos teores dos monossacrídeos neutros utilizados para a análise multivariada podem ser encontradas na Tabela 15 (p. 108). Entretanto, não é possível estabelecer a discriminação em grupos e definir a importância de cada fator nessa separação apenas com esses dados. Para isso, aplicou-se a análise

multivariada. O resultado obtido a partir do auto-escalamento com oito fatores indicou que, com seis componentes principais, a variância cumulativa foi de 99,34%, sendo que um PC1 forneceu 51,39% de informação e PC2, 28,02% de informação. A partir do gráfico dos escores pode ser observada a separação entre as pectinas originárias dos albedos de maracujá, cítrico e de maçã, bem como das matérias-primas (Figura 25).

A pectina de laranja mostrou-se mais deslocada com relação às demais e a pectina de maracujá mostrou-se mais próxima à pectina de maçã, com inserção de poucas amostras desta no grupo da pectina do maracujá. Em função disso, foram avaliados diferentes pré-processamentos, bem como a eliminação de algumas variáveis na construção do modelo exploratório. Contudo, os resultados indicaram similaridade na discriminação e o autoescalamento com os oito fatores foi suficiente para a separação adequada em quatro grupos. De acordo com essa análise por componentes principais, conclui-se que cada um dos monossacarídeos neutros, bem como o total desses açúcares, foram importantes na construção desse modelo (Figura 27).



Legenda: Δ matéria-prima; \blacksquare pectina de maracujá; \square pectina cítrica; \bullet pectina de maçã.

FIGURA 27-ESCORES (À ESQUERDA) E PESOS (À DIREITA) PARA DISCRIMINAÇÃO DE PECTINAS E MATÉRIA-PRIMA.

Segundo os resultados obtidos a partir dos pesos (*loadings*), contribuíram mais para a separação, em ordem decrescente, os teores de fucose (0,9945), total dos monossacarídeos neutros (0,9885), glucose (0,9873) e manose (0,9862).

Embora os teores de fucose e manose (Tabela 15) tenham sido infimamente menores que de outros monossacarídeos neutros, apresentaram maior peso para separação em grupos. Deve-se ressaltar que as amostras de pectina de uma mesma matéria-prima foram extraídas sob diferentes condições de extração de tempo, temperatura e concentração de ácido e que para o maracujá, diferentes tratamentos foram aplicados à matéria-prima. Assim, a partir dos resultados da análise multivariada, enfatiza-se a importância do teor quantitativo de todos os açúcares neutros para discriminação de amostras de pectina.

6.7 CONCLUSÃO

Existe a possibilidade da obtenção de pectina do pericarpo de maracujá com características reológicas de aplicação semelhantes a amostras de pectinas comerciais de outras fontes (de bagaço de maçã e albedo cítrico) em condições de extração ácida.

A pectina obtida de mesocarpo de maracujá-amarelo a frio sem adição de ácido mostrou composição de açúcares e perfil de esterificação semelhante à extraída com ácido a quente. Contudo, apresentou menor massa molar e consequentemente menor viscosidade.

Nas condições de extração comparativa entre amostras de diferentes fontes, a pectina de maçã apresentou menor rendimento de extração, porém grau de esterificação mais elevado, maior viscosidade e maior massa molar. A pectina de farinha de maracujá mostrou características mais próximas à pectina de maçã, com grau de esterificação, viscosidade aparente e massa molar levemente mais baixos. Essa similaridade se confirmou a partir da análise multivariada por componentes principais, que permitiu a discriminação entre as pectinas analisadas, a partir dos teores de monossacarídeos neutros.

7 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL NA OTIMIZAÇÃO DA QUALIDADE

Artigo correspondente: *Rheological and macromolecular quality of pectin extracted with nitric acid from passion fruit rind.*

7.1 FATORES DE INFLUÊNCIA SOBRE A EXTRAÇÃO DA PECTINA

As condições de extração apresentam uma importante função na natureza da pectina, tanto nos aspectos quantitativos quanto qualitativos. As condições podem ser otimizadas (pH, temperatura, tempo) com respeito ao rendimento, capacidade geleificante e DE desejável. A razão da matéria-prima e solvente deve também ser ajustada, visando a separação das fases sólida e líquida, a filtrabilidade do extrato e o custo da evaporação da água no processo. Dessa maneira, é possível controlar a extração de pectina para otimizar seu uso potencial (VORAGEN *et al.*, 1995; LEVIGNE; RALET; THIBAUT, 2002).

Quanto à acidez ou pH na extração de pectina, houve um decréscimo no rendimento da extração de pectina da pera, quando o pH foi elevado em condições constantes de tempo e temperatura (PAGÁN; IBARZ, 1999). O tipo de ácido (HCl ou HNO₃) usado na extração de pectinas de beterraba fresca não mostrou efeito nas características dessas amostras. Em pH 3, o mais alcalino para esse experimento, essas pectinas apresentaram uma composição similar às pectinas solúveis em água. A redução do pH direcionou para a extração de altas quantidades de pectinas ricas em ramnogalacturonanas (LEVIGNE; RALET; THIBAUT, 2002).

A rinsagem ácida após a extração da pectina dos capítulos de girassol promoveu diminuição do conteúdo de metoxila, sendo sugerida a aplicação de ácidos mais diluídos e tempo mais reduzido, bem como a rinsagem com etanol antes da secagem para redução dos efeitos do ácido sobre a cadeia de pectina (SAHARI; AKBARIAN; HAMED, 2003). O tratamento com ácido cítrico em pH neutro antes da extração de pectina de casca de frutos cítricos foi um procedimento interessante na obtenção de cadeias com baixa metoxilação, sem redução da massa molecular, resultando em aumento significativo da viscosidade, proporcional à quantidade de ácido cítrico ligado à pectina (KURITA; FUJIWARA; YAMAZAKI, 2008). Em pH neutro (7,0) tempo maior (3h), o rendimento de extração da pectina de resíduo de

cacau foi mais baixo, mas com conteúdo levemente mais alto de metil e acetil ésteres (MOLLEA; CHIAMPO; CONTI, 2008)

O tipo de ácido e a concentração influenciaram as características molares da pectina extraída de casca de maracujá-amarelo, notadamente a razão GalA/Rha, a massa molar média, a força do gel, o tempo de geleificação e o grau de esterificação (YAPO, 2009a).

A desesterificação e a depolimerização são reações que dependem essencialmente do pH e da temperatura, catalisadas por enzimas ou traços de íons metálicos (THIBAULT; PETIT, 1979).

Em pH e temperaturas constantes na extração de pectina de bagaço de pera fresca, observou-se que tempo mais longo promovia maior rendimento. Entretanto, a partir de determinada temperatura, iniciava-se o decréscimo. Foram realizadas cinéticas de extração a 40 °, 60 ° e 80 °C, entre 10 e 80 minutos de extração, com seis valores de pH diferentes (entre 1,20 a 2,53) num total de 144 experimentos, sem considerar as repetições (PAGÁN; IBARZ, 1999).

A extração rápida de pectinas de albedo de laranja, por aquecimento em microondas sob pressão, resultou no aumento da massa molar, tamanho e viscosidade intrínseca quando comparada à convencional, em função da solubilização de longas e relativamente compactas redes de estruturas agregadas quando a pectina é rapidamente liberada da matriz vegetal (FISHMAN et al., 2000).

Foram avaliados três métodos de desidratação para os precipitados alcoólicos de pectina extraída da casca de soja: secagem por *spray drying*, desidratação a vácuo e *freeze drying*. O método utilizado não mostrou efeitos prejudiciais na estrutura ou composição da pectina extraída da casca de soja ou na solubilidade ou comportamento de escoamento das amostras estudadas. Entretanto, a aparência física da pectina sofreu influência significativa do processo de secagem (MONSOOR, 2005).

A variedade da semente de girassol influenciou o conteúdo de ácido galacturônico e cinzas, bem como o rendimento e o grau de esterificação da pectina extraída (SAHARI; AKBARIAN; HAMED, 2003). A variedade da maçã, entretanto, não influenciou o rendimento da extração de pectina (CANTERI-SCHEMIN et al., 2005).

A viscosidade aparente de dispersões de pectina irradiadas com raios gama (2 a 10 kGy) diminuiu com o aumento da dose de irradiação. Entretanto, o índice de consistência, outra determinação reológica, não foi alterado severamente com esse processo. Assim, os autores indicam esse método com finalidade de preservação (DOGAN; KAYACIER; ERHAN, 2007). Estudos sobre recuperação de frações polissacarídicas solúveis do kiwi, predominantemente constituídas por pectina, indicaram que o rendimento diminuiu com o aumento da temperatura e do tempo de extração. A viscosidade foi influenciada pelo tipo de estrutura do polissacarídeo, bem como pelo arranjo das unidades monossacarídicas ao longo da cadeia. A viscosidade da fração extraída com ácido aumentou significativamente com o aumento da temperatura de extração, mas com o tempo de extração (YIULIARTI et al., 2008). As propriedades reológicas da pectina tratadas com ultrassom foram negativamente influenciadas, com redução da força do gel, aumento do tempo de gelatinização e redução na massa molar média (SESHADRI et al., 2003).

7.2 PLANEJAMENTO DE EXPERIMENTOS NA EXTRAÇÃO DE PECTINA

A atividade estatística mais importante não é a análise dos dados, mas o planejamento dos experimentos em que esses dados devem ser obtidos. A utilização de uma metodologia estatística no desenvolvimento de produtos e processos possibilita: [1] maior confiabilidade nos resultados obtidos; [2] redução do número de experimentos, com melhor qualidade de informação nos resultados; [3] detecção experimental do erro e sua avaliação; [4] otimização de mais de uma resposta ao mesmo tempo; [5] verificação e quantificação dos efeitos sinérgicos e antagônicos entre as variáveis estudadas, visto que o estudo de uma variável por vez não permite estabelecer as interações (RODRIGUES, IEMMA, 2005).

Os planejamentos centrais compostos têm por princípio associar cada vez um esquema do tipo “um fator por vez”, na versão em estrela ou radial e um esquema fatorial da série 2^k . Na Figura 28 está demonstrada uma representação gráfica do planejamento de três fatores. Nesse caso, ao redor do ponto central (0;0;0), as coordenadas dos oito pontos fatoriais são (-1;-1;-1), (-1;-1;+1), (-1;+1;-1), (-1;+1;+1), (+1;-1;-1), (+1;-1;+1), (+1;+1;+1), (+1, +1, -1) e as coordenadas dos seis pontos radiais são (-1,682; 0; 0), (0; -1,682; 0), (0; 0; -1,682), (+1,682; 0; 0), (0; +1,682; 0) e

(0; 0; +1,682). Os 14 pontos periféricos, estritamente equidistantes do ponto central, são as pontas de um poliedro constituído de 24 faces triangulares (DAGNELIE, 2003).

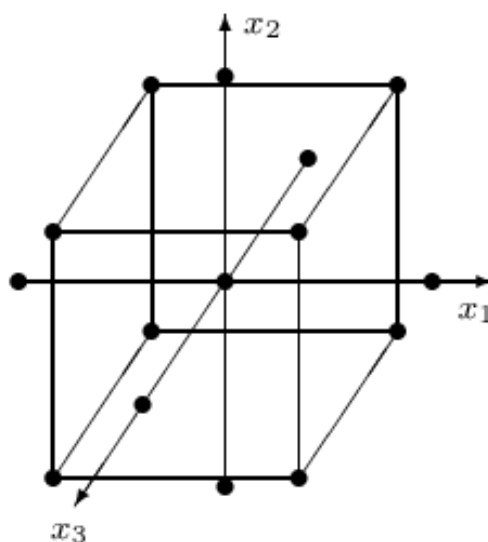


FIGURA 28-REPRESENTAÇÃO GRÁFICA DOS PONTOS EXPERIMENTAIS DO PLANEJAMENTO COMPOSTO CENTRAL DE TRÊS FATORES.

FONTE: DAGNELIE, 2003.

A metodologia de superfície de resposta (RSM), bastante utilizada na modelagem de processos foi introduzida nos anos 1950 (BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2001). A partir da década de 1990, o número de artigos publicados com planejamento experimental fatorial e análise de superfície de resposta quintuplicou segundo a “Food Science and Technology Abstracts” (RODRIGUES, 2006). Alguns trabalhos com planejamentos experimentais foram realizados para explicar as influências dos fatores de extração sobre o rendimento, a composição e o comportamento físico de amostras de pectina, comentados a seguir.

A metodologia de superfície de resposta, a partir da elaboração de um planejamento central composto rotacional (CCRD) de segunda ordem, com 31 pontos experimentais, foi utilizada por Shi *et al.* (1996), na investigação dos efeitos de certas variáveis independentes e suas interações sobre a remoção de pigmentos antes da extração de pectina dos capítulos de girassol. A representação gráfica da RSM auxilia na localização das condições ótimas de pré-tratamento.

Um planejamento fatorial composto completo, dois níveis para quatro fatores, foi usado para estudar a influência de alguns parâmetros (pH, temperatura, tempo e tipo de ácido) nas características de pectinas de beterraba fresca. As condições de extração tiveram efeitos importantes nas características das pectinas extraídas. Sua composição (açúcares neutros e ácidos, DE, teor de ácidos ferúlicos) e algumas propriedades físico-químicas (massa molar e viscosidade intrínseca) foram determinadas. O tipo de ácido usado (HCl ou HNO₃) não teve efeito nas características das pectinas extraídas. O grau de metilação e acetilação apresentaram grande variação com as condições de extração, bem como a natureza e a quantidade das cadeias laterais das amostras obtidas (LEVIGNE; RALET; THIBAUT, 2002)

Resultados obtidos da extração ácida de pectina de casca de banana com a aplicação de planejamento experimental (Hunter's fatorial) indicou o pH como principal parâmetro de influência sobre viscosidade intrínseca. Não foi evidenciada correlação entre viscosidade e massa molar das frações extraídas (EMAGA et al., 2008).

Utilizando bagaço de maçã como matéria-prima, os efeitos de três fatores (tempo, temperatura e concentração e ácido) na extração ácida de pectinas foram avaliados. As variáveis de resposta foram o grau de esterificação e o rendimento gravimétrico da extração. As condições do ponto central (80 °C, 20 min e 50 mM de ácido nítrico) resultaram num polissacarídeo menos degradado, com alto grau de esterificação, porém baixo rendimento (SCABIO et al., 2007). A metodologia de superfície de resposta também foi efetiva para estimar o efeito de quatro variáveis independentes, na extração de pectina. O tempo de extração e o pH da solução de HCl foram efeitos altamente significativos no rendimento da extração da pectina do farelo de trigo, bem como o efeito quadrático do poder das microondas, seguido pelos efeitos de interação do pH e razão sólido:líquido (WANG et al., 2007). Foi estabelecido um modelo para obtenção de maior rendimento para pectina de baixa metoxilação do bagaço de maçã, com extração à temperatura de ebulição, a partir dos efeitos da concentração de ácido nítrico e tempo (FERTONANI et al., 2009).

Com relação à pectina extraída do pericarpo de maracujá, um planejamento central composto com 11 ensaios foi aplicado para verificar os efeitos do tempo de extração e da concentração de ácido cítrico sobre o grau de esterificação. Tempo de

extração mais curtos e condições menos ácidas favorecem a obtenção de pectinas de alto grau de metoxilação (PINHEIRO et al., 2008). Kliemann et al. (2009) estudaram a influência do pH, tempo de extração, temperatura e presença de exocarpo na extração da pectina com três ácidos (nitríco, cítrico e clorídrico), a partir de um planejamento central composto 2^4 . As condições ótimas para maior rendimento (80 °C, pH 1 e 10 min) com ácido cítrico resultaram numa pectina com grau de esterificação próximo a 46% e teor de ácido galacturônico de 69% (KLIEMANN et al., 2009).

7.3 MATERIAL E MÉTODOS

7.3.1 Matéria-prima

Os frutos de maracujá-amarelo foram adquiridos durante a safra 2007 (ano comercial 2007-08), no município de Morretes (PR). A farinha do mesocarpo de maracujá-amarelo foi produzida de acordo com protocolo esquematizado no diagrama da Figura 17.

7.3.2 Planejamento experimental para extração

A metodologia de superfície de resposta (RSM) foi aplicada para analisar os efeitos de três variáveis de entrada sobre as características quantitativas e qualitativas da pectina extraída do albedo de maracujá-amarelo, empregando os dados obtidos no planejamento central composto rotacional (CCRD), um fatorial completo 2^3 , incluindo os seis pontos axiais. O planejamento fatorial consistiu de oito pontos fatoriais, seis pontos axiais (dois pontos axiais no eixo de cada variável a uma distância de 1,68 do centro) e dois pontos centrais, resultando em 16 experimentos (RODRIGUES; IEMMA, 2005). Dois ensaios adicionais (*all maxima* e *all minima*) foram conduzidos para comparação sem inclusão nas análises estatísticas, num total de dezoito amostras de pectina. As variáveis e seus níveis reais foram estabelecidos a partir de resultados práticos de experimentos anteriores na extração de pectina do bagaço de maçã (SCABIO et al., 2007).

Os experimentos foram conduzidos em ordem aleatória para minimizar os efeitos de variação inexplicável nas respostas devido aos erros sistemáticos. A análise de regressão foi realizada baseada nos dados experimentais, expressa em um modelo polinomial de segunda ordem.

$$R = b_0 + b_1x + b_{11}x^2 + b_2y + b_{22}y^2 + b_3z + b_{33}z^2 + b_{12}xy + b_{13}xz + b_{23}yz$$

Equação 8

Nessa equação, R é a variável de resposta; b_0 , b_1 , b_2 e b_3 são os coeficientes de regressão das variáveis para os efeitos lineares; b_{11} , b_{22} e b_{33} para os efeitos quadráticos e b_{12} , b_{13} e b_{23} para os efeitos de interação. Os símbolos x, y e z são as variáveis independentes.

As variáveis independentes estudadas foram tempo de aquecimento (5-45 min), temperatura (63-97 °C) e concentração de ácido nítrico (8-92 mM). As variáveis e seus níveis, com valores reais e codificados investigados neste estudo, estão representados na Tabela 16.

TABELA 16-VARIÁVEIS E NÍVEIS EMPREGADOS NO PLANEJAMENTO CENTRAL ROTACIONAL COMPOSTO PARA OTIMIZAÇÃO DAS CARACTERÍSTICAS REOLÓGICAS DA PECTINA DO MESOCARPO DO MARACUJÁ-AMARELO.

| VARIÁVEIS INDEPENDENTES | Níveis codificados | | | | |
|----------------------------|--------------------|----|----|----|-------|
| | -1,68 | -1 | 0 | +1 | +1,68 |
| | Níveis reais | | | | |
| TEMPO DE AQUECIMENTO (min) | 05 | 13 | 25 | 37 | 45 |
| TEMPERATURA (°C) | 63 | 70 | 80 | 90 | 97 |
| ÁCIDO NÍTRICO (mM) | 08 | 25 | 50 | 75 | 92 |

O protocolo geral de extração e isolamento foi adaptado de Scabio *et al.* (2007) e Fertoni *et al.* (2009) (Figura 18).

7.3.3 Caracterização da pectina extraída

O percentual gravimétrico de cada pectina extraída foi calculado a partir da razão entre a massa da pectina desidratada em pó e a massa da farinha desidratada utilizada como matéria-prima, ambas em base seca. O grau de esterificação foi determinado por titulometria indireta (BOCHEK *et al.*, 2001). O teor em ácido anidrouônico foi obtido por colorimetria com metahidroxidifenil (INRA, 2009b;

BLUMENKRANTZ E ASBOE-HANSEN, 1973). A cromatografia a gás resultou no teor de monossacarídeos neutros após derivatização em alditóis, com inositol como padrão interno (INRA, 2009a). A razão molar entre a concentração de metanol e de ácido galacturônico resultou no grau de metilação.

Dispersões de pectina (15 g L^{-1} , adicionadas de glucose $1,5 \text{ g L}^{-1}$) em tampão acetato de sódio/ácido acético, pH 3,6, foram filtradas através de membranas (Phenex RC $0,45 \mu\text{m}$). A eluição foi aproximadamente $0,8 \text{ mL min}^{-1}$ e $20 \mu\text{L}$ de cada amostra foram injetados no sistema de cromatografia de permeação em gel por exclusão estérica de alta pressão (HPSEC) em HPLC Varian 9050/9010, equipado com coluna TSK-Gel GMPW ($30 \text{ cm L} \times 7,8 \text{ mm ID}$; TosoH Corporation, Japão), em combinação com uma coluna TSK-Gel PX_{XL} ($40 \times 6 \text{ mm}$) a $35 \text{ }^{\circ}\text{C}$, e acoplado a um refratômetro Varian RI-4. Uma curva de calibração foi construída com padrões de dextrana para estimar o perfil de massa molar das amostras de pectina.

A viscosidade reduzida foi calculada a partir do valor absoluto de viscosidade cinemática obtido pelo tempo de escoamento de pectina solubilizada em amostra salina 10 g L^{-1} (YAPO; KOFFI, 2006), filtrada através de membrana de acetato de celulose (Milipore- $0,45 \mu\text{m}$), em viscosímetro capilar Schoot (capilar nº100, tipo 51310 Cannon-Fenske, Constant $k=0,015$), imerso em termostato transparente CT-52 a $25 \pm 1 \text{ }^{\circ}\text{C}$. Para estimativa da viscosidade aparente, as amostras foram solubilizadas (30 g L^{-1}) nessa mesma solução salina, pois, de acordo com Thibault *et al.* (1991), não é possível extrapolar a viscosidade pela diluição na água pura. As dispersões de pectina permaneceram a $50 \text{ }^{\circ}\text{C}$ em estufa até completa dissolução (24-48 horas). A análise foi executada em um viscosímetro Brookfield Model DV-II + PRO (Brookfield Engineering Labs., Inc., Middleboro, MA, U.S.A.), utilizando eixo (*spindle*) SC4-21 e um adaptador para pequenas amostras ($19,05 \text{ mm}$ de diâmetro; $64,77 \text{ mm}$ de profundidade) a $45,0 \pm 0,5 \text{ }^{\circ}\text{C}$. Cerca de $8 \text{ g} \pm 0,1$ de cada amostra foram adicionados à câmara metálica do adaptador, permanecendo em repouso até equilíbrio da temperatura antes do início da medida. A velocidade do eixo (*spindle*) foi ajustada para cada amostra para resultar num torque próximo a 50%. Os resultados de viscosidade aparente foram registrados a cada trinta segundos por três minutos e as médias dos onze valores obtidos foram calculadas, em computador ligado ao sistema, interpretados por meio do software Rheocalc.

Para viscosidade aparente de géis preparados com as amostras de pectina em reômetro, foram solubilizados 30 g L^{-1} de pectina e 20% do total da sacarose em

solução de NaCl 0,1M. Essa suspensão foi levada à estufa durante uma noite, a 45 °C em recipientes hermeticamente fechados. Posteriormente à dissolução, as amostras foram aquecidas a 80 °C por 10 minutos e o restante da sacarose foi adicionado para concentração final de sacarose de 70 g L⁻¹, sob agitação. Depois do resfriamento, o pH foi ajustado até 3,0 ± 0,1 com solução adequada (NaOH 0,5N ou HCl 0,5N) e o gel permaneceu em repouso por 24 horas em temperatura ao redor de 25 °C. A viscosidade dos géis foi determinada com um reômetro rotacional Haake Rheostress RC75, com sensor geométrico do tipo cone-placa (60 mm de diâmetro, 2 graus, TI). As determinações foram conduzidas depois da inércia do equipamento, a 25 °C usando um banho de circulação de água Haake DC5B3 e um controlador de temperatura Haake Universal System Peltier (TC81) (Haake, Karlsruhe, Germany).

7.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

7.4.1 Composição geral das amostras de pectina

A faixa de rendimento nesse planejamento experimental permaneceu entre 164 to 249 g kg⁻¹. Klieman et al. (2009) encontraram valores entre 111-277 g kg⁻¹ em extração com ácido nítrico de mesocarpo de maracujá-amarelo, sob diferentes condições. O rendimento total de pectina extraída com água e ácido de 142 g kg⁻¹ de casca de maracujá desidratada foi encontrado por Yapo and Koffi (2006) em extração sequencial, sob condições mais severas. O rendimento descrito por Yapo (2009a) para pectinas obtidas a partir de resíduos de indústria de suco de maracujá foi de 65 g kg⁻¹ e 139 g kg⁻¹ para extração com ácido nítrico 10 mM e 30 mM, respectivamente. Rendimentos de pectinas entre 39-108 g kg⁻¹ foram obtidos para o mesmo resíduo por extração com ácido cítrico ou suco de limão com pH equivalente (Yapo, 2009b). Para justificar esses valores diversos é importante enfatizar que existem algumas diferenças que influenciam o resultado do processo como a região de produção, o tratamento antes da extração (relativo à matéria-prima), a razão líquido/sólido e o tempo de extração. Na matéria-prima de origem industrial, deve ser ressaltada a importância do rápido processo de desidratação da matéria-prima para evitar a ação de enzimas nativas e fungos produtores de enzimas pécticas (MAY, 1990; THAKUR ; SINGH ; HANDA, 1997)).

As amostras de pectina, embora provenientes da mesma matéria-prima, apresentaram aparência diferenciada, capaz de ser visualizada após a prensagem do gel péctico antes de ser submetido à desidratação em estufa. Essa característica física foi registrada, mesmo que empírica e subjetiva. Na Tabela 17 estão indicadas detalhadamente as variáveis reais e codificadas, utilizadas no planejamento experimental para cada ensaio, bem como os resultados do rendimento de extração da pectina e o aspecto visual de cada amostra extraída, depois da desidratação e antes da moagem.

TABELA 17-RENDIMENTO DE EXTRAÇÃO E ASPECTO VISUAL DAS AMOSTRAS DE PECTINA DO ALBEDO DE MARACUJÁ-AMARELO E RESPECTIVAS VARIÁVEIS INDEPENDENTES DO PLANEJAMENTO CENTRAL ROTACIONAL COMPOSTO APLICADO PARA EXTRAÇÃO.

| Ensaios ^a | Variáveis codificadas | | | Variáveis reais | | | Características | |
|----------------------|-----------------------|------------|-------------|-----------------|------------|-------------|-------------------------------------|----------------|
| | HT (min) | T (°C)* | NAC (mM) | HT (min) | T (°C)* | NAC (mM) | Rendimento (g Kg ⁻¹) | Aparência |
| 1 | -1 | -1 | -1 | 13,1 | 69,9 | 25 | 198 | fibra seca |
| 2 | -1 | -1 | +1 | 13,1 | 69,9 | 75 | 215 | fibra seca |
| 3 | -1 | +1 | -1 | 13,1 | 90,1 | 25 | 223 | palha seca |
| 4 | -1 | +1 | +1 | 13,1 | 90,1 | 75 | 229 | goma úmida |
| 5 | +1 | -1 | -1 | 36,9 | 69,9 | 25 | 198 | fibra seca |
| 6 | +1 | -1 | +1 | 36,9 | 69,9 | 75 | 225 | granular seca |
| 7 | +1 | +1 | -1 | 36,9 | 90,1 | 25 | 217 | palha seca |
| 8 | +1 | +1 | +1 | 36,9 | 90,1 | 75 | 223 | granular seca |
| 9 | -1,68 | 0 | 0 | 05 | 80 | 50 | 196 | granular seca |
| 10 | +1,68 | 0 | 0 | 45 | 80 | 50 | 210 | granular seca |
| 11 | 0 | -1,68 | 0 | 25 | 63 | 50 | 210 | granular seca |
| 12 | 0 | +1,68 | 0 | 25 | 97 | 50 | 249 | granular úmida |
| 13 | 0 | 0 | -1,68 | 25 | 80 | 08 | 164 | palha seca |
| 14 | 0 | 0 | +1,68 | 25 | 80 | 97 | 221 | granular seca |
| 15 | 0 | 0 | 0 | 25 | 80 | 50 | 203 | fibra seca |
| 16 | 0 | 0 | 0 | 25 | 80 | 50 | 205 | fibra seca |
| All min* | 1,68 | -1,68 | 1,68 | 05 | 63 | 08 | 164 | fibra seca |
| All max* | +1,68 | +1,68 | +1,68 | 45 | 97 | 92 | 223 | goma úmida |

HT= tempo de aquecimento (*heating time*); T= temperatura; NAC= concentração de ácido nítrico.

Durante a extração, pode ser observada também diferença de coloração e viscosidade do extrato ácido conforme as condições (brandas ou severas). Entretanto, ensaios de viscosidade aparente no extrato ácido, bem como análises em refratômetro para teor de sólidos solúveis, apresentaram resultados muito próximos mesmo para condições diferentes de extração, indicando que esses

métodos não são capazes de quantificar aproximadamente o teor de pectina antes do isolamento por precipitação etanólica.

Na Tabela 18 estão apresentados os resultados para as amostras de pectina do planejamento experimental relativos à esterificação por duas metodologias, às análises reológicas das amostras de pectina, ao tempo de eluição e ao perfil molar aproximado.

TABELA 18-ESTERIFICAÇÃO, REOLOGIA E PERFIL DA MASSA MOLAR DO PLANEJAMENTO CENTRAL ROTACIONAL COMPOSTO APLICADO PARA EXTRAÇÃO DE PECTINA DO ALBEDO DE MARACUJÁ-AMARELO.

| Ensaios ^a | DE (%) | DM (%) | η_{red} (dL g ⁻¹) | η_{app} (Pa s 10 ³) | $\eta_{app\ gel}$ (Pa s) | Tempo de eluição (min) | Massa molar (g mol ⁻¹)** |
|----------------------|----------|----------|---------------------------------------|---|-----------------------------|------------------------------|---|
| 1 | 77± 0,70 | 81± 0,02 | 7,5±0,08 | 1260±2,65 | 279±4,12 | 9,8 | 118.000 |
| 2 | 75±1,80 | 84±0,07 | 7,5±0,06 | 1233±29,01 | 162±1,69 | 9,2 e 10,4 | 200.000 |
| 3 | 76±0,94 | 69±0,16 | 5,4±0,02 | 840±8,55 | 248±5,58 | 9,6 e 10,9 | 94.000 |
| 4 | 76±2,38 | 42±0,04 | 4,4±0,04 | 194±2,36 | 132±4,51 | 10,4 | 39.000 |
| 5 | 75±1,73 | 75±0,09 | 6,6±0,12 | 773±7,92 | 269±3,45 | 9,2 e 11,3 | 184.000 |
| 6 | 75±1,58 | 51±0,002 | 5,8±0,08 | 132±8,58 | 126±4,47 | 10 | 82.000 |
| 7 | 75±0,68 | 71±0,02 | 6,4±0,10 | 564±20,66 | 288±5,17 | 9,3 | 299.000 |
| 8 | 74±1,86 | 57±0,37 | 4,0±0,07 | 170±0,51 | 76±1,35 | 9,7 e 11 | 78.000 |
| 9 | 75±0,58 | 69±0,04 | 8,0±0,09 | 1411±41,22 | 170±1,48 | 9,3 e 10,5 | 166.000 |
| 10 | 76±0,80 | 64±0,04 | 5,7±0,05 | 990±3,66 | 277±2,71 | 9,1 e 10,2 | 245.000 |
| 11 | 76±0,85 | 85±0,03 | 7,0±0,04 | 575±7,35 | 272±4,31 | 9,4 e 10,8 | 134.000 |
| 12 | 73±0,95 | 76±0,02 | 4,2±0,04 | 236±3,39 | 25±3,49 | 10,1 | 68.000 |
| 13 | 79±0,78 | 82±0,09 | 5,9±0,04 | 702±10,97 | 260±9,05 | 9,1 | 434.000 |
| 14 | 76±0,78 | 79±0,04 | 6,6±0,12 | 382±8,56 | 68±1,35 | 9,0 e 9,8 | 105.000 |
| 15 | 76±0,95 | 78±0,08 | 7,0±0,03 | 1135±12,20 | 96±1,43 | 9,3 | 299.000 |
| 16 | 78±2,21 | 82±0,02 | 6,6±0,04 | 1079±39,49 | 116±6,10 | 9,1 e 9,6 | 303.000 |
| <i>All min*</i> | 76±3,01 | 95±0,02 | 8,5±0,19 | 694±26,64 | 314±9,56 | 9,1 | 434.000 |
| <i>All max*</i> | 66±0,50 | 22±0,02 | 1,7±0,10 | 97±1,83 | 41±2,36 | 10,7 | 22.000 |

^aOs experimentos foram conduzidos em ordem aleatória; * experimentos que não fazem parte do planejamento experimental; ** valores aproximados comparativos aos padrões de dextrana; DE= grau de esterificação; DM= grau de metoxilação; η_{red} = viscosidade reduzida; η_{app} = viscosidade aparente. Obs: a viscosidade foi avaliada em solução salina de pectina (YAPO; KOFFI, 2006)

De acordo com os dados apresentados na Tabela 18, a pectina de mesocarpo de maracujá extraída pode ser caracterizada como de alta metoxilação, com DE médio de 67% e DM médio de 72%. Dois ensaios conduzidos em condições severas de extração (ensaios 4 e máximo) apresentaram baixa metoxilação e dois deles (ensaios 6 e 8) estiveram próximo ao limite (50%). Esses resultados corroboram os encontrados por Pinheiro et al. (2007) e Yapo (2009b), com valores entre 52 e 73%, em extração com ácido cítrico ou suco de limão, respectivamente. O

DE descrito por Yapo e Koffi (2006) para pectina de casca de maracujá foi mais baixo, provavelmente em função da matéria-prima e das condições de extração.

A técnica de dissolução isotônica foi utilizada para considerar a força iônica fornecida pelo polieletrólito a fim de que a força iônica total da dispersão fosse mantida constante durante a diluição, a partir de comentários de THIBAUT et al. (1991). Com os dados da Tabela 18 foi possível obter a amplitude da viscosidade aparente ($132\text{--}1411 \text{ Pa s } 10^3$), a média no ponto central ($1107 \text{ Pa s } 10^3$) e o valor médio ($730 \text{ Pa s } 10^3$) para esse planejamento experimental. A viscosidade aparente máxima, bem como viscosidade reduzida (8 dL g^{-1}) foram observadas no ensaio número 9 com parâmetros de 5 minutos, 80°C e concentração de ácido nítrico de 50 mM. A menor viscosidade ($170 \text{ Pa s } 10^3$) para viscosidade aparente e 4 dL g^{-1} para viscosidade reduzida foi observada no ensaio # 8, numa extração de 37 minutos a 90°C com 75mM de ácido nítrico. Uma importante observação é que esse comportamento está de acordo com os pontos extremos deste planejamento experimental. Condições severas de extração resultaram substâncias pécticas com menor viscosidade aparente e condições suaves resultaram alta viscosidade aparente. Isso corrobora Singthong et al. (2005), que determinaram a viscosidade aparente em dispersões 0,5% (p/v) de pectina de *Krueo Ma Noy*, em que menor temperatura de extração (75°C) resultou nos valores mais elevados de viscosidade aparente, mesmo com maiores tempos de extração.

Os géis de pectina são vistos como sistemas híbridos constituídos por duas fases com alto grau de interface entre a fase contínua, como uma rede tridimensional e a ocorrência de longas cadeias de ácidos pectínicos e uma fase aquosa aprisionada igualmente contínua ou finamente dispersa (BONDU, 1986). Em solução, as pectinas tornam-se polímeros de organização aleatória, com propriedades viscoelásticas influenciadas pela própria pectina e concentração iônica, DM, pH e temperatura (OKECHUKWU; RAO, 1998). Para elaboração do gel, foi utilizada a concentração de 70% de sacarose, 30 g L^{-1} de pectina e o pH foi ajustado até 3 para todas as amostras, independentemente do grau de esterificação de cada amostra.

A partir dos valores da Tabela 18, também se calculou que o DE não apresentou correlação direta com as viscosidades em dispersão ou sob a forma de gel. Sendo a formação do gel resultante do equilíbrio entre a concentração de

açúcar, o pH e o grau de esterificação, esse valor é importante para se delinear o processo de geleificação, mas não deve ser o único fator considerado.

Géis com menor viscosidade foram colonizados por fungos depois de duas semanas, em frascos abertos em local contaminado após a determinação da viscosidade. Dessa forma, pode-se deduzir que a A_w de água desses géis era diferente. Se considerada a quantidade de açúcar equivalente nas amostras, deduz-se que a atividade de água (A_w) é dependente da disponibilidade do soluto, além de sua concentração. Trombetta, Di Bona e Grazi (2005) propuseram em um estudo que, desde que a natureza química de dois géis fosse extremamente similar, a transição dos polímeros na formação de uma rede altera *per se* a A_w .

A Tabela 19 apresenta os resultados da composição de açúcares da pectina do albedo de maracujá-amarelo.

TABELA 19-COMPOSIÇÃO DOS PRINCIPAIS AÇÚCARES DAS AMOSTRAS DE PECTINA DE ALBEDO DE MARACUJÁ-AMARELO (mg g^{-1})

| Nº | AUA | Rha | Fuc | Ara | Xyl | Man | GalA/ Rha* | Gal | Glc | TAN |
|----------|-------|------|------|------|------|------|---------------|------|------|------|
| 1 | 655 | 4 | 1 | 4 | 5 | 2 | 14 | 9 | 17 | 56 |
| 2 | 605 | 8 | 2 | 8 | 9 | 3 | 10 | 13 | 18 | 63 |
| 3 | 825 | 4 | 2 | 8 | 6 | 9 | 18 | 10 | 16 | 55 |
| 4 | 677 | 8 | 1 | 6 | 6 | 3 | 11 | 10 | 21 | 55 |
| 5 | 756 | 9 | 2 | 13 | 9 | 0 | 13 | 13 | 19 | 66 |
| 6 | 956 | 6 | 1 | 3 | 4 | 1 | 23 | 6 | 10 | 31 |
| 7 | 832 | 10 | 2 | 10 | 7 | 0 | 11 | 13 | 21 | 63 |
| 8 | 694 | 8 | 1 | 3 | 5 | 1 | 16 | 10 | 16 | 44 |
| 9 | 780 | 10 | 3 | 9 | 6 | 1 | 11 | 11 | 17 | 57 |
| 10 | 840 | 7 | 1 | 7 | 5 | 1 | 18 | 9 | 13 | 43 |
| 11 | 625 | 8 | 2 | 8 | 7 | 3 | 12 | 10 | 18 | 54 |
| 12 | 642 | 7 | 1 | 4 | 4 | 2 | 14 | 9 | 17 | 43 |
| 13 | 700 | 6 | 1 | 8 | 5 | 3 | 16 | 9 | 17 | 48 |
| 14 | 680 | 13 | 2 | 6 | 12 | 4 | 13 | 20 | 14 | 72 |
| 15 | 595 | 4 | 1 | 7 | 6 | 3 | 25 | 11 | 16 | 47 |
| 16 | 907 | 7 | 1 | 7 | 6 | 3 | 25 | 13 | 18 | 31 |
| All min | 687 | 5 | 1 | 7 | 6 | 3 | 14 | 10 | 16 | 49 |
| All max* | 674 | 7 | 1 | 5 | 4 | 3 | 18 | 08 | 24 | 53 |
| Média | 729 | 7 | 1 | 7 | 6 | 3 | 16 | 11 | 17 | 51 |
| SD | 66.30 | 0,97 | 0,54 | 1,14 | 0,86 | 1,44 | -- | 1,28 | 2,25 | 3,46 |

AUA= ácido urônico; Rha= ramnose; Fuc= fucose; Ara= arabinose; Xyl= xilose; Man= manose; Gal= galactose; Glc= glucose; TAN= total de açúcares neutros; SD= desvio-padrão médio de ao menos três replicatas, com intervalo de confiança de 0,95 e 49 graus de liberdade * razão molar.

O conteúdo total de açúcares neutros varia com a fonte, com as condições de extração e com os tratamentos subsequentes (BEMILLER, 1986; VORAGEN *et al.*, 1995; LEVIGNE *et al.*, 2002; WILLATS; KNOX; MIKKELSEN, 2006; VORAGEN *et al.*, 2009). Neste estudo, as condições de extração foram diferentes para uma só

matéria-prima, apontando os efeitos das condições de extração na composição da pectina. Segundo a Tabela 19, a quantidade média de açúcares neutros das pectinas foi de 51 mg g⁻¹. Os principais açúcares foram a glucose e a galactose, com 17 e 11 mg g⁻¹, respectivamente. A quantidade média de ácido galacturônico da pectina permaneceu entre 605 e 956 mg g⁻¹ com conteúdo médio de ácido galacturônico de 73%. Esses valores estão acima do limite de 65% requerido para que um polissacarídeo extraído seja considerado pectina, de acordo com a legislação dos Estados Unidos e União Européia (WILLATS; KNOX; MIKKELSEN, 2006) e similares aos encontrados por Yapo (2009b) de 63,8% a 78,3% em pectina de casca de maracujá, extraída a 80 °C, por 90 minutos numa razão sólido/líquido de 1:25. A média da razão molar GalA/Rha, como indicador da proporção de blocos no polímero, foi 16. O baixo desvio-padrão entre as amostras para cada monossacarídeo analisado indicou que a composição de açúcares não é fortemente influenciada pelas condições de extração.

7.4.2 Análise estatística

Quanto à análise estatística do planejamento, estudos sobre principais efeitos e interações foram conduzidos para todos os seguintes parâmetros: DE, DM, viscosidade reduzida, viscosidade aparente da dispersão 3% e do gel e rendimento gravimétrico. Nessa amplitude do planejamento experimental, os fatores não mostraram influência com significância estatística sobre DE e DM. Apenas a concentração do ácido (linear) influenciou a viscosidade aparente do gel. Apenas o efeito temperatura (linear e quadrático) exerceu influência estatisticamente significativa sobre a viscosidade reduzida da dispersão 1%. O rendimento e a viscosidade aparente da dispersão 3% mostraram-se influenciados estatisticamente por mais fatores, sendo detalhados a seguir com relação à aplicação da metodologia de superfície de resposta. As respostas obtidas no planejamento experimental foram submetidas à regressão não linear múltipla para obter os coeficientes do modelo polinomial de segunda ordem.

Quanto à viscosidade aparente da dispersão salina 30 g L⁻¹, a qualidade do ajuste da equação do modelo polinomial foi expressa pelo coeficiente de determinação R^2 (0,9200), o qual indica que o modelo adequadamente representou

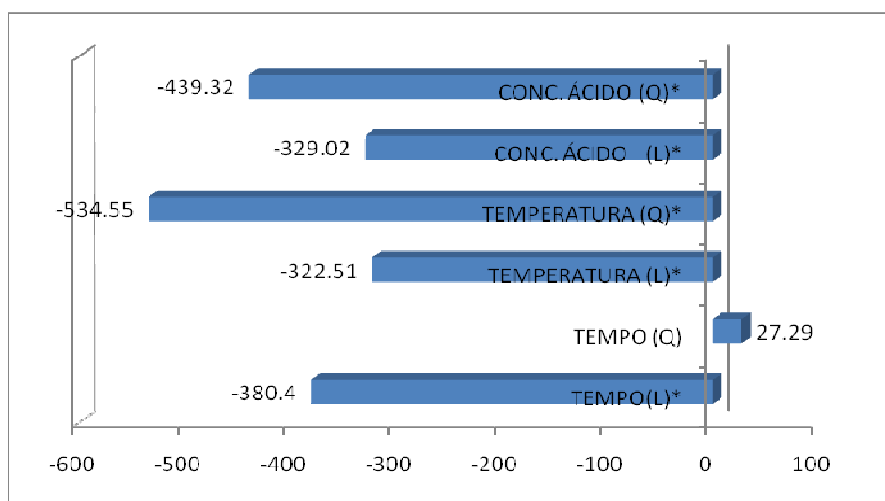
a real relação entre os parâmetros escolhidos. Os valores dos coeficientes estão apresentados na Tabela 20.

TABELA 20-ANÁLISE DE VARIÂNCIA DO MODELO PARA A VISCOSIDADE APARENTE.

| Fonte | Soma dos quadrados | Graus de liberdade | Soma das médias | F _{cal} | F _{tab} | F _{cal} / F _{tab} |
|-----------------|--------------------|--------------------|-----------------|------------------|------------------|-------------------------------------|
| Regressão | 2570042,5 | 9 | 285560,2 | 6,4 | 2,9 | 2,1 |
| Resíduo | 222281,8 | 6 | 37046,9 | - | - | - |
| Falta de ajuste | 222269,3 | 5 | 44453,8 | 3556,3 | 57,2 | 62,1 |
| Erro puro | 12,5 | 1 | 12,5 | - | - | - |
| Total | 3014606,1 | 15 | - | - | - | - |

Variância explicável: 99,99%; variância explicada: 85,25%.

Todos os efeitos significativos foram negativos, indicando que seu aumento contribui para obtenção de valores menores que a média da viscosidade aparente. As análises estatísticas revelaram que a variável mais relevante ($p < 0,001$) referente à viscosidade aparente foi o tempo de extração. A ordem dos fatores lineares que afetaram a viscosidade aparente foi a seguinte: tempo de extração > concentração de ácido nítrico > temperatura (Figura 29).



Graus de liberdade= 15 $\alpha=0.05$. $R^2= 0,92$ * Efeitos significativos

FIGURA 29-EFEITOS DOS FATORES TEMPO, TEMPERATURA E CONCENTRAÇÃO DE ÁCIDO SOBRE A VISCOSIDADE APARENTE DA PECTINA DO MESOCARPO DE MARACUJÁ-AMARELO.

Embora o tempo de extração tenha influenciado fortemente os resultados, seu efeito quadrático (Q) não apresentou significância estatística; então, esse parâmetro foi escolhido como fixo no nível 0 (25 minutos) para elaboração de curva de nível com os resultados obtidos para a temperatura e concentração de ácido nítrico, demonstrada a seguir na Figura 30. Essa superfície indicou que um aumento significativo na viscosidade aparente da pectina pode ser alcançado quando as variáveis estão próximas ao ponto central, com tendência para (-1); (-1). Segundo o

gráfico de superfície de resposta, para se conseguir um máximo de viscosidade aparente da pectina de mesocarpo de maracujá em 25 minutos de extração deve-se utilizar 44 mM de ácido nítrico e 77 °C de temperatura, valores próximos aos estabelecidos para o ponto central desse experimento (50 mM de ácido nítrico e 80 °C de temperatura).

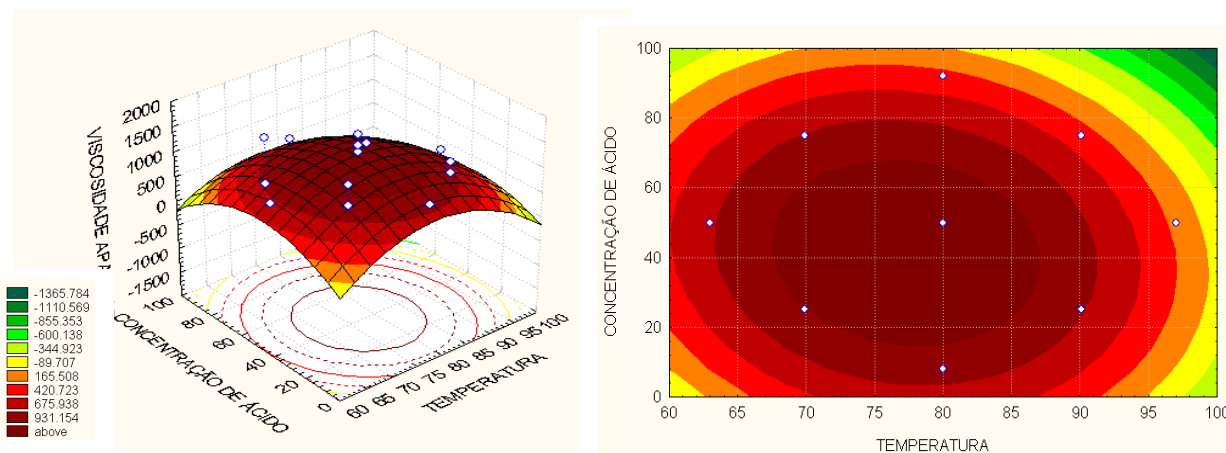
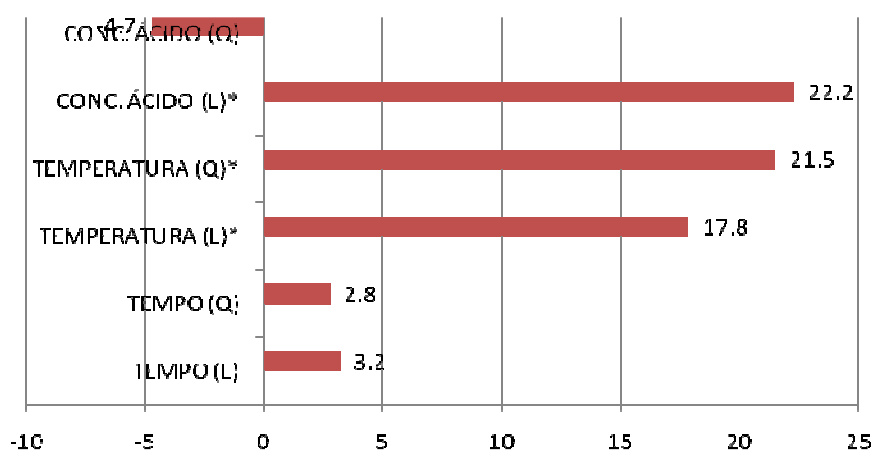


FIGURA 30-SUPERFÍCIE DE RESPOSTA E CURVA DE NÍVEL PARA A VISCOSIDADE APARENTE DA PECTINA EXTRAÍDA DO ALBEDO DE MARACUJÁ-AMARELO EM 25 MINUTOS DE EXTRAÇÃO.

Quanto ao rendimento, a qualidade do ajuste da equação do modelo polinomial foi expressa pelo coeficiente de determinação R^2 (0,876). Todos os efeitos significativos foram positivos, indicando que seu aumento contribui para obtenção de valores maiores que a média do rendimento gravimétrico (Figura 31).



Graus de liberdade= 15 $\alpha=0.05$. $R^2= 0,86$ * Efeitos significativos.

FIGURA 31-EFEITOS DOS FATORES TEMPO, TEMPERATURA E CONCENTRAÇÃO DE ÁCIDO SOBRE O RENDIMENTO GRAVIMÉTRICO DA PECTINA DO MESOCARPO DE MARACUJÁ-AMARELO.

As análises estatísticas revelaram que a variável mais relevante referente ao rendimento gravimétrico foi a concentração de ácido (linear). A ordem dos fatores lineares que afetaram o rendimento gravimétrico foi a seguinte: concentração de ácido nítrico > temperatura > tempo de extração. Embora com influência quantitativa menor, a temperatura, tanto linear quanto quadrática, influenciou o rendimento gravimétrico. O tempo de extração não influenciou estatisticamente os resultados para rendimento gravimétrico, sendo o fator selecionado como fixo no nível 0 (25 minutos) para elaboração de curva de nível com os resultados obtidos para a temperatura e para a concentração de ácido nítrico (Figura 32).

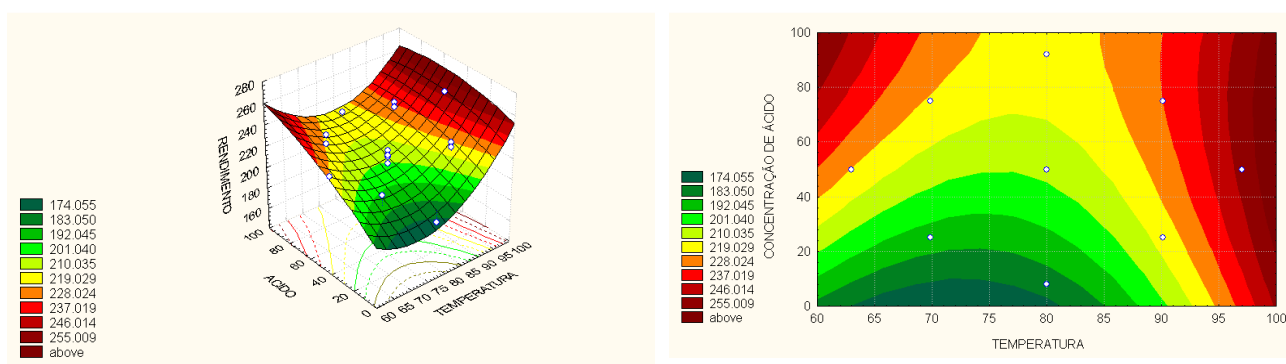


FIGURA 32-SUPERFÍCIE DE RESPOSTA E CURVA DE NÍVEL PARA O RENDIMENTO GRAVIMÉTRICO DA PECTINA EXTRAÍDA DO ALBEDO DE MARACUJÁ-AMARELO EM 25 MINUTOS DE EXTRAÇÃO.

Considerando a faixa para se conseguir um máximo de viscosidade aparente, segundo representação gráfica da Figura 30, observou-se que há um rendimento gravimétrico levemente mais baixo quando as variáveis estão próximas ao ponto central, com tendência para redução nos pontos (0) para temperatura e (-1) para concentração de ácido e (-1); (-1) para ambos (temperatura e concentração de ácido). Ainda assim, o rendimento gravimétrico no ponto de maior viscosidade (#9) atingiu cerca de 200 g Kg⁻¹. Isso corrobora teoricamente a hipótese de que é possível a extração de pectina com elevada qualidade reológica, em quantidades economicamente vantajosas, num rendimento ainda maior ao obtido com a pectina do bagaço de maçã, de 100 a 150 g Kg⁻¹ (H&F, 1998).

7.4.3 Viscosidade e massa molar

Em função da natureza heterogênea da organização das cadeias pécticas, a estimativa do grau de polimerização é a maior dificuldade na análise das substâncias pécticas. A determinação da viscosidade tem sido usada mais frequentemente para determinar a massa molar (M_w), mas isso depende de muitos fatores como concentração, DE, presença de eletrólitos e pH (SAKAI *et al.*, 1993). Embora os resultados de distribuição da massa molar e viscosidade possam estar associados, a remoção de espécies de elevada massa molar afeta somente os resultados de viscosidade obtidos por espalhamento de luz (VORAGEN *et al.*, 1995). Cho e Hwang (2000) citaram que a viscosidade intrínseca dos polissacarídeos hidrossolúveis é afetada pela composição, pelo tamanho e pela forma de cada componente. Uma determinação segura da distribuição da massa molar não é fácil em função da natureza heterogênea (DAAS; VORAGEN; SCHOLS, 2001) e influências no comportamento de escoamento das moléculas, mesmo em concentrações diluídas (CORREDIG; WICKER, 2001).

A extração de pectina envolve processos físicos e químicos para obter pectina solúvel em água, acompanhada pela não controlada e inevitável hidrólise de ligações ésteres, remoção de açúcares neutros e difusão da pectina solúvel no extrato (VORAGEN *et al.*, 1995). Neste trabalho, ensaios com longo tempo de aquecimento (#8, #12 e *all maxima*) mostraram um perfil de eluição na cromatografia de exclusão estérica deslocado à direita, devido às estruturas hidrolisadas de pequena massa molar. O ensaio #12 correspondeu ao mais alto rendimento, mas não mostrou o mais alto DE, DM ou viscosidades. Isso confirma que redes estruturais agregadas de pectina são dissociadas em componentes menores mas mais assimétricos em condições de aquecimento prolongado (FISHMAN *et al.*, 2000).

Ensaios cujo perfil de eluição sugere alta massa molar por cromatografia de exclusão estérica foram #7, #13, ponto central (#15 e #16) e *all minima*. Ensaio #13 e *all minima* apresentaram o menor rendimento neste estudo (ambas 164 g Kg^{-1}). De acordo com Scabio *et al.* (2007), a pectina com menor modificação no perfil molecular pode ser obtida em condições de extração com baixos rendimentos. Em todos os ensaios, as condições brandas de extração não estão associadas com alta

viscosidade e elevada massa molar, embora sistemas em condições severas sejam também a explicação tanto para a viscosidade quanto para a massa molar.

Ao se comparar a aparência da pectina desidratada antes da moagem (Tabela 17, p 121) com a massa molar aproximada, menor massa molar esteve correlacionada à aparência de goma ou grânulos “úmidos”, indicando indiretamente a hidrólise dessas cadeias. A pectina perde sua característica fibrosa, observada visualmente nas amostras com maior massa molar.

Desde que não existem padrões de pectina com distribuição e massa molar conhecidas disponíveis, optou-se pelo uso de dextranas como padrão para calibração da coluna de HPSEC. Devido a isso, foi obtido um perfil geral comparativo de Mw entre as amostras de pectina obtidas em diferentes condições de extração. Na Figura 33 estão apresentadas as curvas para o perfil de massa molar pelo método HPSEC. V_0 e V_t foram, respectivamente, 9,1 e 13,3 minutos.

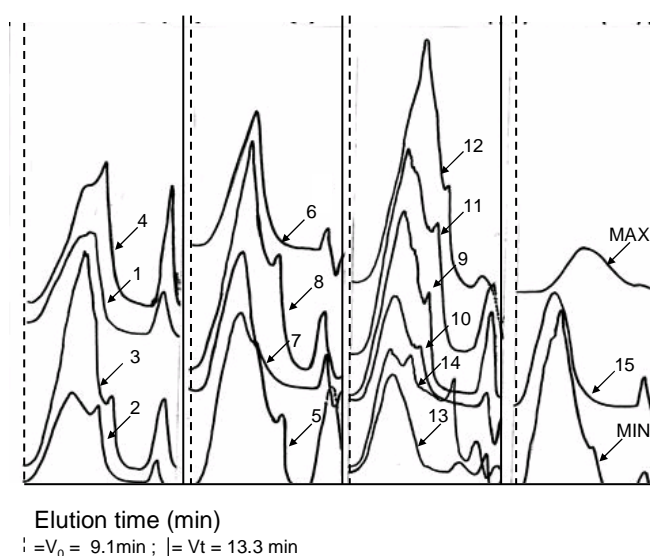


FIGURA 33-PERFIS DE CROMATOGRAFIA DE EXCLUSÃO ESTÉRICA DE ALTA PRESSÃO DAS AMOSTRAS DE PECTINAS DE MESOCARPO DE MARACUJÁ-AMARELO OBTIDAS EM METODOLOGIA DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA.

O grau de esterificação e o grau de metilação, indicativos do teor de grupamentos esterificados determinados por duas diferentes metodologias, não apresentou boa correlação com R^2 de apenas 0,5408.

Na Figura 34, está demonstrada a viscosidade aparente comparativa do gel elaborado com 30 g L^{-1} de pectina.

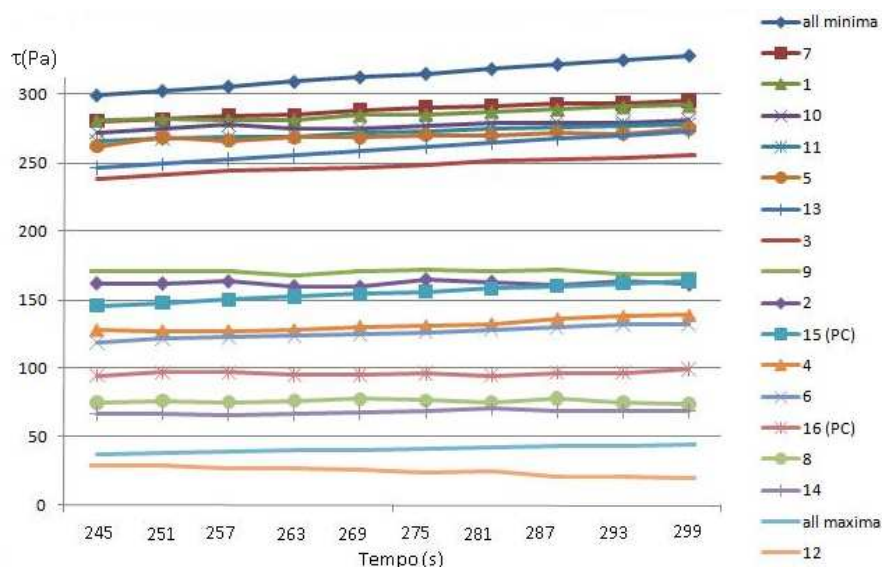


FIGURA 34-VISCOSIDADE APARENTE DO GEL 30 g L⁻¹ DAS AMOSTRAS DE PECTINAS DE MESOCARPO DE MARACUJÁ AMARELO OBTIDAS EM METODOLOGIA DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA.

Embora essa resposta não tenha apresentado significância estatística em relação aos fatores avaliados, mostra-se importante ressaltar que as amostras que formaram gel em ponto de corte (acima de 200 Pa s⁻¹-Tabela 18), também apresentaram perfil compatível com polímeros de elevada massa molar (#5, #7, #10, #13, *all minima*). As amostras # 1, # 3 e #11, mesmo com perfil de massa molar mais baixa, produziram gel firme, provavelmente em função de seu elevado grau de metilação. De acordo com dados da Tabela 18, pode-se notar também que amostras de pectina com valores muito próximos em seus teores de esterificação (#3 e #7 e #9, como exemplo) podem diferir significativamente na viscosidade e formação do gel, o que deve afetar suas aplicações na área de alimentos. Isso confirma que a distribuição dos grupamentos metil ésteres na molécula podem ser mais importantes na viscosidade que a quantidade absoluta desses grupamentos (SCHOLS; VORAGEN, 1996; WILLATS; KNOX; MIKKELSEN, 2006) e que muitos fatores podem estar influenciando o comportamento de amostras de uma única fonte.

Para que uma preparação polissacarídica possa ser considerada com alto grau de pureza, são considerados critérios de avaliação as constâncias da composição monossacarídica, dos valores quantitativos dos constituintes estruturais e da razão entre os monossacarídeos constituintes, bem como a uniformidade na taxa de sedimentação no comportamento em cromatografia por troca iônica (PAZUR, 1994). Em função disso, industrialmente, não se objetiva uma pectina

“pura”, sendo realizada a extração sob condições consideradas mais adequadas, seguida da padronização posterior.

Para aplicação enquanto agente estabilizante, um modelo para obter uma pectina com cadeias maiores e viscosidade mais elevada pode ser interessante. Entretanto, para produção de pectina em escala industrial, o empirismo ainda permanece como bom senso, sem controle rigoroso dos fatores de produção e padronização depois do processamento com mistura de diferentes pectinas entre elas e com outras substâncias. Assim, pectinas de qualidade reológica elevada podem favorecer o custo/benefício no balanço para obtenção de uma pectina comercial, um produto padronizado para assegurar que os clientes possam encontrar sempre a força do gel descrita e desejada.

7.5 CONCLUSÃO

Um modelo para prever a viscosidade da pectina do mesocarpo foi estabelecido, considerando os fatores tempo, temperatura e concentração de ácido nítrico como variáveis independentes. A pectina com maior viscosidade aparente ($1411 \text{ Pa s } 10^3$) foi extraída com os fatores em condições medianas, sendo 5 minutos de extração, a 80°C e com 50 mM de ácido nítrico. O rendimento foi 196 g kg^{-1} de uma pectina com alta metoxilação, massa molar de $166.000 \text{ g mol}^{-1}$, 78% de ácido anidrouônico e 43 mg g^{-1} de açúcares neutros. Entretanto, o gel elaborado a partir dessa mesma amostra com 70% de sacarose e 30 g L^{-1} de pectina num pH 3,0 não apresentou bom poder de geleificação nas condições analisadas, quando comparado às outras amostras.

Segundo o planejamento experimental aplicado, condições de extração mais brandas permitiram a extração de pectinas com cadeias com massa molar mais elevada e consequente viscosidade mais elevada. Entretanto, o grau de esterificação e o poder de geleificação não estão diretamente correlacionados às variáveis independentes utilizadas.

Amostras de pectina com teor de esterificação (DE e DM) próximos (como exemplo, as amostras #3 e #9) apresentaram características reológicas e perfis moleculares diferentes, indicando que esse parâmetro, usualmente utilizado para estabelecer o protocolo de produção de géis, não deve ser o único considerado, justificando a padronização das pectinas comerciais.

8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

8.1 CONCLUSÃO GERAL

Com relação à composição da matéria-prima, a fibra alimentar é o principal componente do pericarpo do maracujá-amarelo, com teor próximo a 60%, exceto para a fração endocarpo, a mais rica em proteína de todas as frações analisadas. Quanto à qualidade da pectina extraída das frações, o mesocarpo resultou no rendimento mais elevado (136 g Kg^{-1}) com maior viscosidade e menor teor em compostos fenólicos totais (15%). A composição média desta fração foi 3,1% de proteínas; 0,6% de lipídeos; 7,1% de resíduo mineral fixo; 66,1% de fibra alimentar total; 127 g Kg^{-1} de compostos fenólicos, 23% de carboidratos disponíveis, 6,1% de umidade e valor calórico de 242 Kcal por 100 g de produto. Os principais componentes de polissacarídeos foram a glucose (297 mg g^{-1}), o ácido urônico (210 mg g^{-1}), a xilose (32 mg g^{-1}), a manose (32 mg g^{-1}) e a galactose (28 mg g^{-1}).

Com relação à extração de pectina sob as mesmas condições, a partir do pericarpo do maracujá-amarelo comercial ou de bancada, do mesocarpo cítrico e do bagaço de maçã, os resultados indicam uma forte influência da matéria-prima sobre o produto resultante e suas propriedades reológicas. As características moleculares foram afetadas negativamente quando a matéria-prima foi submetida a altas temperaturas. As farinhas branqueadas do maracujá-amarelo resultaram rendimento de pectina de 203.4 g kg^{-1} com teor em ácido urônico de 681 mg g^{-1} , DE e DM de 80, viscosidade reduzida de 6.8 dL g^{-1} e viscosidade aparente de $13,4 \text{ Pa s } 10^3$ para uma solução aquosa 10 g L^{-1} . A autoclavação e a maceração com etanol a quente resultou em redução significativa da massa molar (ao redor de três vezes) e uma ligeira diminuição do DE (próximo a 20%). Os tratamentos térmicos severos da matéria-prima afetaram a qualidade da pectina extraída, enquanto que a ausência de tratamento térmico favoreceu a degradação da pectina, pela presença de atividades pectinolíticas residuais, evidenciadas pela liberação de metanol em mesocarpo fresco liofilizado em suspensão aquosa. O branqueamento da matéria-prima mostra-se, em consequência, indispensável.

A pectina de maçã apresentou o menor rendimento de extração, mas o DE mais elevado e as mais intensas viscosidade e massa molar. A pectina extraída do maracujá-amarelo demonstrou características próximas às da pectina de maçã,

confirmadas pela análise de componentes principais, que permitiu discriminar as pectinas analisadas a partir da composição em açúcares neutros. A pectina extraída com água a frio a partir do mesocarpo de maracujá-amarelo apresentou composição em açúcares e DE semelhantes à extraída em meio ácido a quente, com menores massa molar e viscosidade.

Enfim, um planejamento experimental central composto 2^3 foi utilizado para determinar o efeito das variáveis independentes, contínuas e atuantes no processo de extração sobre variáveis dependentes: rendimento, DE, teor dos açúcares, bem como o comportamento reológico, a fim de maximizar a qualidade da pectina. As variáveis independentes foram o tempo (5-45 min), a temperatura (63-97 °C) e a concentração de ácido nítrico (8-92 mM). O rendimento da extração e a viscosidade aparente em solução salina foram influenciados significativamente ($> 5\%$) nos ensaios. As condições ideais para extração de pectina com maior viscosidade aparente e com polissacarídeos apresentando um perfil de massa molar elevada foram tempo curto de extração (5 min), temperatura média (80 °C) e concentração média de ácido nítrico (50 mm). Nessas condições, o rendimento foi de 196 g kg^{-1} de uma pectina de alta metoxilação, com massa molar aparente de $166.000 \text{ g mol}^{-1}$, 78% de ácido urônico e 43 mg g^{-1} de açúcares neutros. Porém, a pectina extraída nessas condições não resultou no gel mais firme (70% de sacarose, teor em pectina de 30 g L^{-1} em tampão citrato pH 3) que outras amostras analisadas. Amostras de pectina com DE próximos apresentaram diferentes características reológicas e perfil de massa molar diversos.

De uma maneira geral, o mesocarpo submetido ao branqueamento parece ser adequado para obtenção de pectina com pureza e viscosidade elevadas. O pericarpo de maracujá-amarelo, um resíduo industrial da produção de suco, pode constituir uma matéria-prima alternativa para extração de pectina de elevada qualidade e utilização como ingrediente funcional natural.

8.2 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Com relação:

1. À matéria-prima:

- avaliar o efeito clínico de farinhas comerciais de casca de maracujá e de bancada submetidas a diferentes tratamentos térmicos em cobaias,

comparativamente à estrutura molecular e comportamento reológico da pectina extraída;

- identificar e quantificar os compostos fenólicos presentes no pericarpo de maracujá-amarelo;
- estudar a interação entre compostos fenólicos e pectina na parede celular;
- promover o isolamento e identificação das enzimas pectinolíticas presentes no mesocarpo de maracujá-amarelo;

2. Ao processo de extração:

- realizar a caracterização físico-química dos resíduos da produção de pectina, sugerindo aplicação tecnológica adequada
- extrair sequencialmente as substâncias pécticas com diferentes tampões para caracterização em nível estrutural;
- avaliar as características da pectina após filtração do extrato ácido em diferentes agentes;

3. Ao produto final

- determinar o grau de acetilação das amostras de pectina;
- identificar e quantificar os açúcares raros da cadeia de pectina de pericarpo de maracujá-amarelo;
- estabelecer protocolos de produção de geléia com a pectina de maracujá-amarelo, baseados nas características macromoleculares;
- determinar a viscosidade por métodos não testados, em outros equipamentos, bem como desenvolver estudos do perfil viscoelástico de amostras de pectina.

REFERÊNCIAS

- ABRELPE- Associação Brasileira de Empresas de Limpeza Pública e Resíduos Especiais. **Panorama dos Resíduos Sólidos 2008**. Disponível em: < http://www.abrelpe.org.br/panorama_2008.php>. Acesso em 19/09/2009.
- ACIL-Associação Comercial e Industrial de Limeira. Visão Empresarial 2007. CPKelco Brasil S/a. Disponível em < <http://www.acil.org.br/site/diadaempresa/2007/encarte01/jornal10.htm>> Acesso em fev. 2010.
- ANTHON, G. E.; BARRETT, D. M. Combined enzymatic and colorimetric method for determining the uronic acid and methylester content of pectin:application to tomato products. **Food Chemistry**, v. 110, p. 239 –247, 2008.
- AOAC- Association of Analytical Communities. **Official Methods of Analysis**. 30 ed. Washington: 2000, 1094 p.
- ASKAR, A. Importance and characteristics of tropical fruits. **Fruit Processing**, Schönborn, v. 08, n. 07, p. 273-275, jul. 1998.
- ASKAR, A.; TREPTOW, H. Tropical fruit processing waste management – Part I: waste reduction and utilization.1998. **Fruit Processing**, Schönborn, v. 07, p. 354-359, 1997.
- AYYAD K., HASSANIEN F.; RAGAB M. The effect of γ irradiation on the structure of pectin. **Die Nahrung**, v. 34, n. 05, p. 465-468, 1990.
- BAKER, G. High polymer pectins and their deesterification. In: MRAK, E. M.; STEWART, G. F. **Advances in Food Research**. V. 1. New York: Academic Press, 1948. p. 395-422.
- BARON, A. Jus de fruits. In: ALBAGNAC G.; VAROQUAUX P., MONTIGAUD J.-C. **Technologies de transformation des fruits**. Paris: Lavoisier. p. 287-344, 2002.
- BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como fazer experimentos**. Campinas: Editora da UNICAMP, 2001. 401p.
- BATES, R. P.; MORRIS, J. R.; CRANDAL, P. G. Principles and practices of small- and medium scale fruit juice processing. **Agricultural Services Bulletin**. FAO-Food and Agriculture Organization of the United Nations, n. 146, p. 25, 2001.
- BEMILLER, J. N. In: FISHMANN, M. L.; JEN, J. J. **Chemistry and function of pectin**. Florida: ACS, p. 2-12, 1986.
- BRAVERMAN, J. B. S.; BERK, Z. **Braverman's Introduction to the Biochemistry of Foods**. Elsevier, 1976. 315 p.
- BERNACCI, L. C.; SOARES-SCOTT, M. D.; JUNQUEIRA, N. T. V; PASSOS I. R. S.; MELETTI L. M. M. *Passiflora edulis* Sims: The correct taxonomic way to cite the yellow passion fruit (and of others colors). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, n. 2, p. 566-576, jun. 2008.
- BIMBENET, J. J. In: ALBAGNAC, G., VAROQUAUX, P., MONTIGAUD, J. C. (ed), **Technologie de transformation des fruits**, TEC & DOC, pp. 209-234, 2002.

BLUMENKRANTZ, N., ASBOE-HANSEN, G. New method for quantitative determination of uronic acids. **Analytical Biochemistry**, v. 54, p. 848-489, 1973.

BOBBIO, P. A.; BOBBIO, F. O. **Química do Processamento dos Alimentos**. São Paulo: Varela, 2001. 152 p.

BOCHEK, A. M.; ZABIVALOVA, N. M.; PETROPAVLOSVSKII, G. A. Determination of the esterification degree of polygalacturonic acid. **Russian Journal of Applied Chemistry**, v. 74, n. 05, p. 775-777, mai. 2001.

BONDU, M. Propriétés fonctionnelles des pectines. CPCIA. **Propriétés fonctionnelles des polysaccharides**. 13-15 mai. 1986. Nantes

BRADOCK, R. J. Importance of by-products to citrus juice processing. **Fruit Processing**, Schönborn, v. 14, p. 310-313, set./out. 2004.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente. **Conferência das Nações Unidas sobre meio-ambiente e desenvolvimento**. Resolução Conama nº 313, de 29 de outubro de 2002. Dispõe sobre o Inventário Nacional de Resíduos Sólidos Industriais. Acesso em 02/05/2009. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/port/conama/res/res02/res31302.html>.

BRASIL. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Resolução– RDC nº263, de 22 de setembro de 2005. Regulamento técnico para produtos de cereais, amidos, farinhas e farelos. Disponível para busca em: <[http:// legis.anvisa.gov.br](http://legis.anvisa.gov.br). Acesso em 02/05/2009a.

BRASIL. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Resolução– RDC nº278, de 22 de setembro de 2005. Regulamento técnico para produtos de cereais, amidos, farinhas e farelos. Disponível em: <[http:// legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?mode=PRINT_VERSION&id=18822](http://legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?mode=PRINT_VERSION&id=18822) Acesso em 02/05/2009b.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Manual de gerenciamento de resíduos de serviços de saúde**. Brasília: Ministério da Saúde, 2006. 182 p.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente. **Conferência das Nações Unidas sobre meio-ambiente e desenvolvimento**. Disponível em: http://www.mma.gov.br/estruturas/agenda21/_arquivos/cap21.pdf Acesso em dez. 2007.

BRODY, T. Nutritional Biochemistry. London: Academic Press, 1994, 658 p.

CABRAL, L. M. C.; FREIRE JÚNIOR, M.; DA MATTA, V. M. Suco de maracujá. In: VENTURINI FILHO, W. G. **Tecnologia de bebidas: matéria-prima, processamento, BPF/APPCC, legislação e mercado**. São Paulo: Edgard Blücher, 2005. p. 293-307.

CANEVAROLO JR., S. V. Ciência dos Polímeros. São Paulo: Artliber Editora, 2002. 183 p.

CANTERI-SCHEMIN, M. H. **Obtenção de pectina alimentícia de bagaço de maçã**. Curitiba, 2003. 70 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos)- Departamento de Engenharia Química- Universidade Federal do Paraná.

CANTERI-SCHEMIN, M. H.; GOMES, M.; SANTOS, M. S.; WOSIACKI G. Obtenção de pectina da casca de maracujá-amarelo: agregando valor a um subproduto. **XVIII Congresso Brasileiro de Fruticultura**. Florianópolis. 22-26 nov. 2004.

CANTERI-SCHEMIN M. H.; FERTONANI H. C. R.; WASZCZYNSKYJ N.; WOSIACKI G. Extraction of pectin from apple pomace. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 48, n. 2 : p. 259-266, mar. 2005.

CARPITA, N.; McCANN, M. The cell wall. In: BUCHANAN, B. B.; GRUISSEM, W.; JONES, R. L. **Biochemistry and Molecular Biology of Plants**. Berkeley: American Society of Plant Physiologists. 2000. p. 52-108.

CARVALHO, A. V.; VASCONCELOS, M. A. M.; ALVES, S. M.; FIGUEIREDO, F. J. C. Aproveitamento do Mesocarpo do Maracujá na Fabricação de Produtos Flavorizados. **Comunicado Técnico**. Embrapa Amazônia Oriental. Belém, dez. 2005.

CERNÁ, M.; BARROS, A.; NUNES, A.; ROCHA, S. M.; DELGADILLO, I., COPÍKOVÁ, J. C., COIMBRA, M. A. Use of FT-IR spectroscopy as a tool for the analysis of polysaccharide food additives. **Carbohydrate Polymers**. v. 51, p. 383-389, 2003.

CHAPLIN, M. F. Monosaccharides. In: CHAPLIN, M. F.; KENNEDY, J. F. **Carbohydrate analysis**. 2 ed. London: Oxford University Press, 1994. p. 01-41.

CHITARRA, M. I. F.; CHITARRA, A. B. **Pós colheita de frutas e hortaliças: fisiologia e manuseio**. 2 ed. Lavras: UFLA, 2005. 785 p.

CHO, Y.-J.; HWANG, J.-K. Modeling the yield and intrinsic viscosity of pectin in acidic solubilization of apple pomace. **Journal of Food Engineering**, v. 44, n. 2, p. 85-89, 2000.

CHRISTENSEN, S. H. Pectins. In: GLICKSMAN M. **Food Hydrocolloids**. Florida: CRC Press, 1984

CIAT- CENTRO INTERNACIONAL DE AGRICULTURA TROPICAL. Disponível em: http://www.ciat.cgiar.org/ipgri/fruits_from_americas/frutales/intro%20Passiflora.htm. Acesso em 06/08/06.

COLIN-HENRION, M. **De la pomme à la pomme transformée : impact du procédé sur deux composés d'intérêt nutritionnel**. Angers, 2008. 299f. (Tese em Ciências Agrônômicas)- École Doctorale D'Angers-Universidade d'Angers, 2008.

CONFRUCTA STUDIEN. Gráficos comparativos sobre valor de mercado de suco concentrado de frutas, nov. 2009.

CONWAY, G.. **Produção de alimentos no século XXI: biotecnologia e meio ambiente**. São Paulo: Estação Liberdade, 2003. 375 p.

CÓRDOVA, K. R. V.; GAMA, T. M. M. T. B.; WINTER, C. M. G.; KASKANTZIS, NETO G.; FREITAS, R. J. S. Características físico-químicas da casca do maracujá- amarelo (*Passiflora edulis flavicarpa degener*) obtida por secagem. **Boletim do CEPPA**. Curitiba, v. 23, n. 2, p. 221-230, jan./jun. 2005.

CORREDIG, M.; WICKER L. Changes in the molecular weight distribution of three commercial pectins after valve homogenization. **Food Hydrocolloids**, n. 15, v. 1, p. 17-23, 2001.

CYBERCOLLOIDS. **Pectin manufacturers**. Disponível em: <<http://www.cybercolloids.net>>. Acesso em 14/08/2006.

CYBERCOLLOIDS. **Introduction to pectin**. Disponível em : <<http://www.cybercolloids.net/library/pectin/introduction.php>>. Acesso em 29/09/2008.

D'ADDOSIO, R.D.; PÁEZ, G., MARÍN, M , MÁRMOL, Z., FERRER, J. Obtención y caracterización de pectina a partir de la cáscara de parchita (*Passiflora edulis f. flavicarpa* Degener). **Revista de la Facultad de Agronomía**, Caracas, v. 22, n. 03, p. 241-251, jul. 2005.

DAAS, P. J. H., VORAGEN, A. G. J., SCHOLS, H. A. Study of the methyl ester distribution in pectin with endo-polygalacturonase and high-performance size-exclusion chromatography. **Biopolymers**, v. 58, n. 2, p. 195-203, 2001.

DAGNELIE, P. Principes d'expérimentation: planification des expériences et analyse de leurs résultats. Édition életronique. Disponível em :<<http://www.daneglie.be>>. 397 p.

DANIELLS, S. Pectin: sourcing issues and ideas. Food navigator. Disponível em: <<http://www.foodnavigator.com/Science-Nutrition/Pectin-Sourcing-issues-and-ideas>>. Acesso em: 23/06/2008.

DOGAN, M.; KAYACIER, A.; ERHAN I. C. Rheological characteristics of some food hydrocolloids processed with gamma irradiation. **Food Hydrocolloids**, v. 21, p. 392-396, 2007.

DONER, L. W. Analytical methods for determining pectin composition. In: FISHMANN, M. L.; JEN, J. J. **Chemistry and function of pectin**. Florida: ACS, 1986, p. 13-19.

ELWELL, W. E.; DEHNT, W. M. Pectic content of plant materials. **Plant Physiology**, v. 14, n. 04, p. 809-816, 1939.

EMAGA, T. H.; HAPPI, T.; RONKART, S. N.; ROBERT, C.; WATHELET, B.; PAQUOT, M. Characterisation of pectins extracted from banana peels (*Musa AAA*) under different conditions using an experimental design. **Food Chemistry**, v. 108, p. 463-471, 2008.

ENDRESS, H. U. Nonfood uses of pectin. In: WALTER R.; TAYLOR, S. **The Chemistry and Technology of Pectin**. New York: Academic Press, 1991.p. 251-268.

ENDRESS, G. High quality resulting from product integrated environment protection- PIUS. **Fruit Processing**. Schönborn, v. 10, n. 07, p. 273-276, jul. 2000.

ESCARPA , A., GONZÁLEZ, M. C. Approach to the content of total extractable phenolic compounds from different food samples by comparison of chromatographic and spectrophotometric methods. **Analytica Chimica Acta**, v. 427, p. 119-127, 2001.

ESPERANCINI, M. S. T. Mercado brasileiro de bebidas. In: VENTURINI FILHO, W. G. **Tecnologia de bebidas: matéria-prima, processamento, BPF/APPCC, legislação e mercado**. São Paulo: Edgard Blücher, 2005. p. 21-49.

FAEP-Federação da Agricultura do Estado do Paraná. **Cartilha de Classificação do Maracujá**. Comissão Técnica de Hortifruticultura. Disponível em :<<http://www.faep.com.br/comissoes/frutas/cartilhas/frutas/maracuja.htm>>. Acesso em

09/02/2010.

FAO-FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Food energy – methods of analysis and conversion factors**. Food and nutrition paper 77. Report of a technical workshop. Roma, 3–6 de dezembro de 2002.

FAO-FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. Groupe Intergouvernemental sur la Banane et sur les Fruits Tropicaux. **Projections à Moyen Terme de l'Offre et de la Demande de Fruits Tropicaux à l'Horizon 2010**. Terceira sessão. Espanha, Puerto de la Cruz, 11/15 dez. 2003.

FAO Statistical Yearbook 2005-2006. Table B3. **Production of fruits and vegetables and share in world**. Disponível em: http://www.fao.org/docrep/009/a0490m/a0490m00.HTM#Contents_fr. Acesso em 02/05/2009a.

FAO-FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. **Faostat Database- Production tonnes world and Production Quantité (1000 tonnes)/ Brésil**. Disponível em < <http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567#ancor> > Acesso em: 08/09/2009b.

FARAVASH, R. S., ASHTIANI, F. Z. The influence of acid volume, ethanol-to-extract ratio and acid-washing time on the yield of pectic substances extraction from peach pomace. **Food Hydrocolloids**, v. 22, p. 196-202, 2008.

FCC- FOOD CHEMICALS CODEX- First Supplement- IV Edition Monograph Specifications. 1996. Pectins. CAS: [9000-69-5], p. 35.

FERNANDES, A. F.; PEREIRA, J.; GERMANI, R.; OIANO-NETO, J. Efeito da substituição parcial da farinha e trigo por farinha de casca de batata (*Solanum Tuberosum* Lineu). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 28 (Supl.), p. 56-65, dez. 2008.

FERRARI, R. A., COLUSSI, F.; AYUB, R. A. Caracterização de subprodutos da industrialização do maracujá-aproveitamento das sementes. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 26, n. 1, p. 101-102, abr. 2004.

FERREIRA, M. M. C., ANTUNES, A. M., MELGO, M. S.; VOLPE, P. L. E. Quimiometria I: calibração multivariada, um tutorial. **Química Nova**, v. 22, n. 05, set./out. 1999.

FERTONANI, H. C. R.; SCABIO, A.; CANTERI-SCHEMIN, M. H.; CARNEIRO, E. B. B.; NOGUEIRA, A. ; WOSIACKI, G. Influence of acid concentration on extraction and quality of apple pomace pectin. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 27, n. 4, p. 599-612, out./dez. 2006.

FERTONANI, H. C. R.; SCABIO, A.; CARNEIRO, E. B. B.; CANTERI-SCHEMIN, M. H.; NOGUEIRA, A.; WOSIACKI, G. Extraction Model Of Low Methoxyl Pectin from Apple Pomace Effects of acid concentration and time on the process and the product. **Brazilian archives of biology and technology**. v. 52, n. 1, p 177-185, jan./fev. 2009.

FIGUEROLA, F.; HURTADO, M. L.; ESTÉVEZ, A. M.; CHIFFELE, I.; ASSENJO, F. Fibre concentrates from apple pomace and citrus peel as potential fibre sources for food enrichment. **Food Chemistry**, n. 91, p. 395-401, 2005.

FILISETTI-COZZI, T. M. C. C.; CARPITA, N. C. Measurement of Uronic Acids without interference from neutral sugars. **Analytical Biochemistry**, n. 197, p. 157-162, 1991.

FILISETTI, T. M. C. C.; LOBO, A. R. Fibra alimentar e seu efeito na biodisponibilidade de minerais. In: COZZOLINO S. M. F. **Biodisponibilidade de nutrientes**. São Paulo: Manole, 2007. p. 175-215.

FISHMAN, M. L., CHAU, H. K., HOAGLAND, P., AYYAD, K. Characterization of pectin, flash-extracted from orange albedo by microwave heating, under pressure. **Carbohydrate Research**, v. 323, p. 126-138, 2000.

FOX, G. Zur Wirtschaftlichkeit der Trocknung von Apfeltrester. **Confructa Studien**. Schönborn, v. 28, n. 02, mar./abr. 1984. p. 174-182.

FUKUMOTO, L. R; MAZZA, G. Assessing Antioxidant and Prooxidant Activities of Phenolic Compounds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, n. 8, p. 3597-3604, jul. 2000.

GLASS, J.E.; SCHULZ, D. N.; ZULOSKI, C. F. Polymers as Rheology Modifiers: an overview. In: SCHULZ, D. N.; GLASS, J. E. **Polymers as Rheology Modifiers**. Washington: ACS, 1991. p. 2-17.

GONÇALVES, J. S.; SOUZA, S. A. M. Fruta da paixão: panorama econômico do maracujá no Brasil. **Informações Econômicas**, v. 36, n. 12, p. 29-36, dez. 2006.

HAARD, N. F.; CHISM, G. W. Características de los tejidos vegetales comestibles. In: FENNEMA, O. R. **Química de los Alimentos**. 2 ed. Zaragoza: Acribia, p 1118-1199, 2000.

H&F HERBSTREITH & FOX. Pectins in Preventive Nutrition and Therapy. Disponível em: http://www.herbstreith-fox.de/fileadmin/tmp/pdf/funde/FuE_Pectins_in_Preventive_Nutrition_and_Therapy.pdf. Vitafood Congress. 1998.

H&F HERBSTREITH & FOX. **The specialists for pectin**. Disponível em: < http://www.herbstreith-fox.de/fileadmin/tmp/pdf/broschueren/The_Specialists_for_Pectin_09.pdf > Acesso em 17/10/2003.

H&F- HERBSTREITH & FOX. **Chances and limits for the use of pectin as emulsifier**. Lecture of the Master Class on Emulsion Technology held at FI Food Ingredients Europe, 3-5 November 1998, Frankfurt, Germany. Disponível em: <[http:// www.herbstreith-fox.de/en/forschung_und_entwicklung/forschung_entwicklung04a.htm](http://www.herbstreith-fox.de/en/forschung_und_entwicklung/forschung_entwicklung04a.htm)>. Acesso em 24/04/2006.

H&F- HERBSTREITH & FOX **Rheological Methods to Characterize Pectins in Solutions and Gels**. Disponível em:< http://www.herbstreith-fox.de/fileadmin/tmp/pdf/funde/FuE_Rheological_Methods.pdf> Acesso em 23/10/2008.

HAND, D. B.; MOYER, J. C.; RANSFORD, J. R.; HENING, J. C.; WHITTENBERGER, R. T. Effect of processing conditions on the viscosity of tomato juice. **Food Technology**, v.9, n.5, p.228-235, 1955.

HOOPER, J. Tropical fruit juices. ASHURST, P. R. **Production and packaging of non-carbonated fruit juices and fruit beverages**. 2 ed., p.108- 127, 1995.

HUISMANN, M. M. H.; OOSTERVELD, A.; SCHOLS, H. A. Fast determination of the degree of methyl esterification of pectins by head-space GC. **Food Hydrocolloids**, v. 18, p. 665-668, 2004.

IAGHER, F.; REICHER, F.; GANTER, J. L. M. S. Structural and rheological properties of polysaccharides from mango (*Mangifera indica* L.) pulp. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 31, p. 9-17, 2002.

IAL-Instituto Adolfo Lutz. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. ZENEBON O., PASCUET N. S., TIGLEA P. Método 012/IV. 1 ed. digital, p 98-99, 2008.

IBARZ, A.; PÁGAN, A.; TRIBALDO, F.; PÁGAN, J. Improvement in the measurement of spectrophotometric data in the *m*-hydroxydiphenil pectin determination methods. **Food control**, v. 17, p. 890-893, 2006.

IBGE-Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. SIDRA. Sistema IBGE de Recuperação Automática. Disponível em: <<http://www.sidra.ibge.gov.br/bda/tabela/protabl.asp?z=t&o=11&i=P>> Acesso em 16/01/2009.

IGLESIAS, M. T.; LOZANO, J. E. Extraction and characterization of sunflower pectin. **Journal of Food Engineering**. v. 62, n. 3, p. 215-223, mai 2004.

INRA-INSTITUTE NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE. UMR 408. **Dosage des oses neutres par la méthode des acetates d'alditols : Characterization of cell walls..** Avignon: protocolo de atividade prática fornecido em 07 jan. 2009a.

INRA-INSTITUTE NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE. UMR 408. **Dosage acide galacturonique colorimétrie-01.** Avignon: protocolo de atividade prática fornecido em 12 fev. 2009b.

IPPA-INTERNACIONAL PECTIN PRODUCERS ASSOCIATION – **What is pectin-Discovery and history.** Disponível em: <http://www.ippa.info/what_is_pectin.htm> Acesso em 28/08/2006.

ITDG- Intermediate Technology Development Group. **Fruits Wastes Utilization.** Disponível em:<http://www.itdg.org/docs/technical_information_service/fruit_waste_utilisation.pdf#search=%22wastes%20fruits%22>. Acesso em 29/08/2006.

ITI TROPICALS; QUICORNAC. Passion Fruit Juice. Disponível em: <http://www.passionfruitjuice.com/> Acesso em 16/08/2009.

IUPAC. Compendium of Chemical Terminology, 2nd ed. (the "Gold Book"). Compiled by A. D. McNaught and A. Wilkinson. Blackwell Scientific Publications, Oxford (1997). XML on-line corrected version: <http://goldbook.iupac.org>, created by M. Nic, J. Jirat, B. Kosata; updates compiled by A. Jenkins. ISBN 0-9678550-9-8.doi:10.1351/goldbook.R05283, 2006a

IUPAC. Compendium of Chemical Terminology, 2nd ed. (the "Gold Book"). Compiled by A. D. McNaught and A. Wilkinson. Blackwell Scientific Publications, Oxford (1997). XML on-line corrected version: <http://goldbook.iupac.org>, created by M. Nic, J. Jirat, B. Kosata; updates compiled by A. Jenkins. ISBN 0-9678550-9-8. doi:10.1351/goldbook.R05220, 2006b.

JANEIRO, D. I.; QUEIROZ, M. S. R.; RAMOS, A. T.; SABAA-SRUR, A. U. O. CUNHA, M. A. L.; DINIZ, M. F. F. M. Efeito da farinha da casca do maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* f.

flavicarpa Deg.) nos níveis glicêmicos e lipídicos de pacientes diabéticos tipo 2. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 18, supl., p. 724-732, dez. 2008.

JANSEN, A. A. J. Agriculture. In: JANSEN, A. A. J.; PARKINSON S.; ROBERTSON A. F. S. A. **Food and nutrition in Fiji: a historical review**. Volume 2. Suva: University of South Pacific, 1991. p. 690-718.

JAFELICCI JUNIOR, M.; VARANDA, L. C. O mundo dos colóides. **Química nova na escola**. n. 9, mai. 1999.

JOLLIFE, I. T. **Principal component analysis**. 2 ed. New York: Springer Series in Statistics, 2002. 457 p.

JOSLIN, M. A.; DEUEL, H. The extraction of pectins from apple marc preparations. **Journal of Food Science**.v. 28, n. 01, p. 65-83, jan. 1963.

KERTESZ, Z. I. **The pectic substances**. New York: Interscience, 1951. 628 p.

KIM, C. H.; LIPTÁK, B. G. Viscometers-Laboratory. In: LIPTÁK, B. G. **Instrument Engineers' Handbook: Process measurement and analysis**. 4 ed. Florida: CRC Press, P. 1708-1722.

KIPE, S. 2004. The World Fresh Fruit Market. Foreign Agricultural Service, Horticultural and Tropical Products Division. USDA. Disponível em:< [http://www.fas.usda.gov/.../World%20Fresh%20Fruit%20Market%20\(08-04\).pdf](http://www.fas.usda.gov/.../World%20Fresh%20Fruit%20Market%20(08-04).pdf)> Acesso em 16/12/2008.

KLIEMANN, E. **Extração e caracterização da pectina da casca do maracujá amarelo. (*Passiflora edulis flavicarpa*)**. Florianópolis, 2006. 75 f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos)- Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos- Universidade Federal de Santa Catarina.

KLIEMANN, E., SIMAS, K. N., AMANTE, E. R., PRUDÊNCIO, E. S.; TEÓFILO, R. F., FERREIRA, M. M. C.; AMBONI, R. D. M. C. Optimisation of pectin acid extraction from passion fruit peel (*Passiflora edulis flavicarpa*) using response surface methodology. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 44, n. 3, p. 476-483, 2009.

KNIEPERT, L. Innovative raw materials for innovative drinks. *Fruit Processing*, v. 19, set./out. 2009.

KOUBALA, B. B., MBOME, L. I., KANSCI, G., TCHOUANGUEP, M. F., CREPEAU, M.-J., THIBAUT, J.-F., RALET, M.-C. Physicochemical properties of pectins from ambarella peels (*Spondias cytherea*) obtained using different extraction conditions. **Food Chemistry**, v. 106, p. 1202 –1207, 2008a.

KOUBALA, B. B., KANSCI, G., MBOME, L. I., CREPEAU, M.-J., THIBAUT, J.-F., RALET, M.-C. Effect of extraction conditions on some physicochemical characteristics of pectins from “Améliore” and “Mango” peels. **Food Hydrocolloids**, v. 22, p. 1345-1351, 2008b.

KROYER, G. T. Impact of Food Processing on the Environment an Overview. **Lebensm.-Wis. u.-Technol.**, v. 28, p. 547-552, 1995.

KURITA, O.; FUJIWARA, T., YAMAZAKI, E. Characterization of the pectin extracted from citrus peel in the presence of citric acid. **Carbohydrate Polymers**, v. 74, p. 725-730, 2008.

LE BOURVELLEC, C.; GUYOT, S.; RENARD, C. M. G. C. Interactions between polyphenols and cell walls: modification of polysaccharide extractability. **Carbohydrate Polymers**, v. 75, p. 251–261, 2009.

LEGENTIL, A.; GUICHARD, I.; PIFFAUT, B.; HALUK, J. P. Characterization of strawberry pectin extracted by chemical means. **Lebensm.-Wiss. U.-Tecnol.**, v. 28, 569-576, 1995.

LEITÃO, M. C. A., ALARCÃO SILVA, M. L., JANUÁRIO, M. I. N., AZINHEIRA, H. G. Galacturonic acid in pectic substances of sunflower head residues: quantitative determination by HPLC. **Carbohydrate Polymers**. v. 26, n. 3, p. 165-169, 1995.

LEORO, M. G. V. **Desenvolvimento de cereal matinal extrusado orgânico à base de farinha de milho e farelo de maracujá**. Campinas, 2007, 123 f. Dissertação de Mestrado em Tecnologia de Alimentos. Universidade Estadual de Campinas.

LEVIGNE, S.; RALET, M.-C.; THIBAUT, J.-F. Characterisation of pectins extracted from fresh sugar beet under different conditions using an experimental design. **Carbohydrate polymers**. n. 49, p. 145-153, 2002.

LEVIGNE, S., THOMAS, M., RALET, M. -C., QUEMENER, B., THIBAUT, J. -F. Determination of the degrees of methylation and acetylation of pectins using a C18 column and internal standards. **Food Hydrocolloids**. v. 16, n. 6, p. 547-550, nov. 2002.

LEWIS, M. J. **Propiedades físicas de los alimentos y de los sistemas de procesado**. Zaragoza: Acribia, 1993. 493 p.

LIMA, A. A., CARDOSO, C. E. L.; SOUZA, J. S.; PIRES, M. M. **Comercialização do maracujazeiro**. Toda Fruta. 2006. Disponível em: <http://www.todafruta.com.br/todafruta/mostra_conteudo.asp?conteudo=13850>. Acesso em 07/02/2010.

LINDEN, U. M. von der. The market for tropical juices in Europe. **Fruit Processing**. Schönborn, v. 14, jul./ ago. 2004. p. 279-284.

LOEILLET, D. L.; GAYET J.-P. 1999. Le marche du fruit de la passion frais et transformé. **Fruitrop**, n. 56, p. 08-15, 1999.

LOUSADA JUNIOR, J. E., COSTA, J. M. C., NEIVA, J. N. M.; RODRIGUEZ, N. M. Caracterização físico-química de subprodutos obtidos do processamento de frutas tropicais visando seu aproveitamento na alimentação animal. **Revista Ciência Agronômica**, v.37, n.1, p.70-76, 2006.

LOZANO, J. E. **Fruit manufacturing: scientific basis, engineering properties, and deteriorative reactions of technological importance**. New York: Springer, 2006. 230 p.

MACHADO, J. C. V. **Reologia e escoamento fluidos-ênfase na indústria de petróleo**. Rio de Janeiro: Interciência, 2002. 257 p.

MACHADO, S. S.; CARDOSO, R. L.; MATSUURA, F. C. A. U.; FOLEGATTI, M. I. S. Caracterização física e físico-química de frutos de maracujá amarelo provenientes da região de Jaguaquara-Bahia. **Magistra**. Cruz das Almas, v. 15, n. 02, jul./dez. 2003.

MATTES, F. HERBSTREITH & FOX. **Cholesterol and the power of pectin**. Disponível em: <<http://www.herbstreith->

fox.de/fileadmin/tmpl/pdf/awtinfo/AWT_Cholesterol_and_the_Power_of_Pectin.pdf> Acesso em 16/08/2005.

MATSUURA, F. C. A. U. Estudo do albedo de maracujá e de seu aproveitamento em barra de cereais. Campinas, 2005, 138 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos- Área de Tecnologia de Alimentos)- Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas.

MAY, C. D. Industrial pectins: sources, production and applications. **Carbohydrate Polymers**, v. 12, p.79-99, 1990.

MESBAHI, G.; JAMALIAN, J.; FARAHNAKY, A. A comparative study on functional properties of beet and citrus pectins in food systems. **Food Hydrocolloids**.v. 19, n. 4, p. 731-738, jul. 2005.

MIN-MINISTÉRIO DA INTEGRAÇÃO NACIONAL. Cadernos Frutiséries. Disponível em <http://www.irrigar.org.br/publicacoes/frutiseries/frutiseries_2_df.pdf>. Acesso em 10/05/2005.

MOHNEN, D. Pectin structure and biosynthesis. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 11, p. 266–277, 2008.

MOITA NETO, J. M.; MOITA, G. C. Uma introdução à análise exploratória de dados multivariados. **Química Nova**, v. 21, n. 04, p. 467-469, 1998.

MOLLEA, C.; CHIAMPO, F., CONTI, R. Extraction and characterization of pectins from cocoa husks: A preliminary study. **Food Chemistry**, v. 107, p. 1353 –1356, 2008.

MONSOOR, M. A. Effect of drying methods on the functional properties of soy hull pectin. **Carbohydrate Polymers**, v. 61, n. 3, p. 362-367, ago. 2005.

MORRIS, A. S. **Measurement and instrumentation principles**. Oxford: Butterworth-Heinemann, 475 p.

MORRIS, G. A.; TORRE, J. G.; ORTEGA, A. ; CASTILE, J. ; SMITH, A. ; HARDING, S. E. Molecular flexibility of citrus pectins by combined sedimentation and viscosity analysis. **Food Hydrocolloids**, v. 22, p. 1435-1442, 2008.

NARAIN, N.. Aroma de frutas tropicais: III. maracujá e cajá. In: FRANCO, M. R. B. **Aroma e sabor de alimentos- temas atuais**. São Paulo: Livraria Varela, 2003. 246 p.

NEIVA JÚNIOR, A. P.; SILVA FILHO, J. C.; TIESENHAUSEN, I. M. E. V. V.; ROCHA, G. P.; CAPPELLE, E. R.; COUTO FILHO, C. C. C. Efeito de diferentes aditivos sobre os teores de proteína bruta, extrato etéreo e digestibilidade da silagem de maracujá. **Ciência e agrotecnologia**, v. 31, n. 3, p.871-875, jun. 2007a.

NEIVA JÚNIOR, A. P.; SILVA FILHO, J. C.; TIESENHAUSEN, I. M. E. V. V.; DE FREITAS, R. T. F.; COUTO FILHO, C. C. C ; NOGUEIRA, D. Efeito de diferentes aditivos sobre a qualidade fermentativa da silagem de resíduo de maracujá amarelo. **Ciência e agrotecnologia** , vol.31, n.5, p. 1519-1524, set./out. 2007b.

NOGUEIRA, A.; WOSIACK, G.; FALCÃO, L. D.; CHIQUETTO, N. C. Os produtos nobres da maçã: suco clarificado de maçã. AGAPOMI. n. 164. Disponível em: <<http://www.agapomi.com.br/jornal.php?noticia=50>> jan. 2008.

OFST- Office Federal de la Sante Publique. **Manuel suisse des denrées alimentaires.** Gélifiants et épaississants. Chapitre 40. juin 1993. Disponível em < http://www.bag-anw.admin.ch/SLMB_Online_PDF/Data%20SLMB_MSDA/Version%20F/40_Gelifiants.pdf> Acesso em 26/11/2005.

OKECHUKWU, P. E.; RAO, A. Rheology of structured polysaccharide food systems: Starch and Pectin. In: WALTER, R. H. **Polysaccharyde Association Structures in Food.** New York: Marcel Dekker, p. 289-328, 1998.

OLIVEIRA, L.F.; NASCIMENTO M. R. F., BORGES S. V., RIBEIRO P. C. N., RUBACK V.R. Aproveitamento alternativo da casca do maracujá-amarelo (*Passiflora edulis F. Flavicarpa*) para produção de doce em calda. **Ciência e Tecnologia de Alimentos.** Campinas, v.22, n.03, p.259-262, set.-dez. 2002.

OLIVEIRA, M. M.; CAMPOS, A. R. N.; DANTAS, J. P.; GOMES, J. P.; SILVA, F. L. H. Isotermas de dessorção da casca do maracujá (*Passiflora edulis Sims*): determinação experimental e avaliação de modelos matemáticos. **Ciência Rural.** v. 36, n. 5, set./out. 2006.

OLLÉ, D.; BRAT, P.; REYNES, M.; BRILLOUET, J.-M. Produits à base de fruits tropicaux et subtropicaux pour réutilisation industrielle. In: ALBAGNAC, G.; VAROQUAUX, P.; MONTIGAUD, J.-C. **Technologies de transformation des fruits.** Paris: Lavoisier, 2002. p. 345-381.

OOSTERVELD, A.; BELDMAN, G.; SCHOLS, H. A.; VORAGEN, A. G. J. Arabinose and ferulic acid rich pectic polysaccharides extracted from sugar beet pulp. **Carbohydrate Research**, v. 288, p. 143-153, 1996.

OWENS, H. S.; LOTZKAR, H.; SCHULTZ, T. H.; MACLAY, W. D. Shape and size of pectinic acid molecules deduced from viscometric measurements. **Journal of American Chemical Society.** New York, n. 08, v. 68, p. 1628-1632, ago 1946.

PAGÁN, J.; IBARZ, A. Extraction and rheological properties of pectin from fresh peach pomace **Journal of Food Engineering.** v. 39, p. 193-201, 1999.

PAZUR, J. H. Neutral polysaccharides. In: CHAPLIN, M. F.; KENNEDY, J. F. **Carbohydrate analysis.** 2 ed. London: Oxford University Press, 1994. p. 73-124

PELIZER, L. H.; PONTIERI, M. H.; MORAES, I. O. Utilização de resíduos agro-industriais em processos biotecnológicos como perspectiva de redução do impacto ambiental. **Journal of Technology Management & Innovation**, v. 02, n. 01, p. 118-127, mar. 2007.

PERES, P. A.; SOUZA, F. L.; CANTERI-SCHEMIN, M. H.; STADLER, C. C. Valorização de resíduos agroindustriais do maracujá. **Simpósio Brasileiro de Pós-Colheita de Frutos Tropicais.** João Pessoa. 29 nov./02 dez. 2005.

PERES, P. A.; CANTERI-SCHEMIN, M. H. Rendimento da extração de pectina de diferentes partes de maracujá. **6º Simpósio Latino Americano de Ciência de Alimentos.** Campinas, 07-10 nov. 2005. p. 1467.

PÉREZ, S.; RODRÍGUEZ-CARVAJAL, M. A.; DOCO, P. A complex plant cell wall polysaccharide: rhamnogalacturonan II. A structure in quest of a function. **Biochimie**, v. 85, p. 109-121, 2003.

PINHEIRO, E. R. Pectina da casca do maracujá amarelo (*Passiflora edulis flavicarpa*): otimização da extração com ácido cítrico e caracterização físico-química . Florianópolis, 2007. 79 f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos)- Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos- Universidade Federal de Santa Catarina.

PINHEIRO, E. R., SILVA, I. M. D. A., GONZAGA, L. V., AMANTE, E. R., TEÓFILO, R. F., FERREIRA, M. M. C., AMBONI, R. D. M. C. Optimization of extraction of high-ester pectin from passion fruit peel (*Passiflora edulis flavicarpa*) with citric acid by using response surface methodology. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 13, p. 5561-5566, fev. 2008.

PINTO, M. R. **Viscosidade de soluções diluídas de polímeros**. UNICAMP. Departamento de Físico-Química. Disponível em : <http://pcserver.iqm.unicamp.br/~mgo/cursos/qf732/viscosidadepolimericas.pdf>. Acesso em 07/02/ 2010.

QUIMIBRAS. Lista de preços e produtos. Disponível em:<http://www.quimibras.com.br/homepage/produtos/dyne_todos.html>. Acesso em 17/02/2010.

RAMOS, A.T.; CUNHA, M.A.L.; SABAA-SRUR, A.U. O.; PIRES, V. C. S.; CARDOSO, M. A., DINIZ, M.F. M.; MEDEIROS, C. C. M. Uso de *Passiflora edulis f. flavicarpa* na redução do colesterol. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, v. 17, n. 4, p. 592-597, out./dez. 2007.

REIS, J.; PAIVA, P. C. A.; VON TIESENHAUSEN, I. M. E. V.; DE REZENDE, C. A. P. Composição química, consumo voluntário e digestibilidade de silagens de resíduos do fruto de maracujá (*Passiflora edulis sims f. Flavicarpa*) e de capim-elefante (*Pennisetum purpureum schum*) cv. Cameroon e suas combinações. **Ciência e Agrotecnologia**. Lavras, v. 24, n. 1, p. 213-224, jan./mar. 2000.

RENARD, C. M. G. C.; JARVIS, M. C. Acetylation and methylation of homogalacturonans 1: optimisation of the reaction and characterisation of the products. **Carbohydrate Polymers**. v. 39, n. 3, p. 201-207, jul. 1999 .

RENARD, C. M. G. C.; BARON, A.; GUYOT, S.; DRILLEAU, J.-F. Interactions between apple cell walls and native apple polyphenols: quantification and some consequences. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 29, p. 115-125, 2001.

RENARD, C. M. G. C. **Galacturonic acid and degree of esterification of pectins by titrimetry**. Cahier de laboratoire n. A08810. nov. 2008.

RENARD, C. M. G. C.; GINIES, C. Comparison of the cell wall composition for flesh and skin from five different plums. **Food Chemistry**, v. 114, p. 1042-1049, 2009.

RIBEIRO, B. M. **Visão geral da empresa CPKelco**. Apresentação proferida na sala de reuniões da parte administrativa da empresa CPKelco, Limeira, 18 fev. 2002.

RIDLEY, B. L.; O'NEIL, M. A.; MOHNEN, D. Pectins: structure, biosynthesis and oligogalacturonide-related signaling. **Phytochemistry**. v. 57, n. 06, p. 929-967, jul. 2001.

RODRIGUES, M. I. **Planejamento experimental e otimização de processos: uma ferramenta indispensável para o desenvolvimento e melhoramento de produtos e processos aplicados à indústria de alimentos**. XX Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos. Apostila do Curso 9. Curitiba: outubro de 2006.13 p. 01.

RODRIGUES, M. I.; IEMMA A. F. **Planejamento de experimentos e otimização de processos- uma estratégia seqüencial de planejamentos**. Campinas: Casa do Pão, 2005. 326 p.

SAHARI, M. A.; AKBARIAN, A. M.; HAMED, M. Effect of variety and acid washing method on extraction yield and quality of sunflower head pectin. **Food Chemistry**, v. 83, p. 43-47, 2003.

SAKAI, T.; SAKAMOTO, T.; HALLAERT, J.; VANDAMME, E. Pectin, Pectinase and Protopectinase: production, properties and applications. **Advances in applied microbiology**, v. 39, p. 213-294, 1993.

SANT'ANA A. F.; DOMENE S. M. A. Teores de glicosídeos cianogênicos em derivados de mandioca determinados por protocolo adaptado ao laboratório de micronutrientes. **Anais do XIII Encontro de Iniciação Científica da PUC-Campinas**, 21 e 22 de outubro de 2008.

SCABIO, A.; FERTONANI, H. C. R.; CANTERI-SCHEMIN, M. H. PETKOWICZ, C. L. O.; CARNEIRO, E. B. B.; NOGUEIRA, A.; WOSIACKI, G., 2007. A model for pectin extraction from apple pomace. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 10, p 259-265, out.-dez. 2007.

SCHIEBER, A.; STINTZING, F. C.; CARLE, R. By-products of plant food processing as a source of functional compounds- recent developments. **Trends in Food Science & Technology**, v. 12, p. 401-413, 2001.

SCHIEBER, A.; HILT, P.; STREKER, P.; ENDRESS, H.-U.; RENTSCHLER, C., CARLE, R. A new process for the combined recovery of pectin and phenolic compounds from apple pomace. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 04, p. 99-107, 2003.

SCHOLS, H. A. ; VORAGEN, A. G. J. Complex pectins: structure elucidation using enzymes. In: Visser J.; Voragen A. G. J. **Pectins and pectinases**. Netherlands: Elsevier, 1996. p. 3-19.

SEIDERMAN, J. Selected fruits from middle and south America. **Fruit Processing**, v. 7, p. 304-311, 2002.

SESHADRI, R.; WEISS, J.; HULBERT, G. H.; MOUNT, J. Ultrasonic processing influences rheological and optical properties of high-methoxyl pectin dispersions. **Food hydrocolloids**, v. 17, p. 191-197, 2003.

SHI, X. Q., CHANG, K. C., SCHWARZ, J. G., WIESENBERN, D. P., SHIH, M. C. Optimizing pectin extraction from sunflower heads by alkaline washing. **Bioresource Technology**, v. 58, n. 3, p.291-297, 1996.

SILVA, S.. Frutas Brasil Frutas. São Paulo: Empresa das Artes, Projetos e Edições Artísticas Ltda. 1993.

SILVA, S. Maravilhas do Brasil- Wonders of Brazil. Frutas-Fruits. São Paulo: Escrituras Editora e Distribuidora de Livros. 2006. 121 p.

SINGLETON, V. L.; ORTHOFER, R.; LAMUELA-RAVENTÓS, R. S. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin- Ciocalteu Reagent. **Methods in Enzymology**, v. 299 ,p. 152 –178, 1999.

SINGTHONG, J.; CUI, S. W.; NINGSANOND, S.; GOFF, H. D. Structural characterization, degree of esterification and some gelling properties of Krueo Ma Noy (*Cissampelos pareira*) pectin. **Carbohydrate Polymers**, v. 58, p. 391–400, out. 2004.

SINGTHONG, J.; NINGSANOND, S.; CUI, S. W.; GOFF, H. D. Extraction and physicochemical characterization of krueo ma noy pectin. **Food hydrocolloids**, v. 19, n. 5, p. 793-801, set. 2005.

SLONEKER, J. H. Gas-liquid chromatography of alditol acetates. **Methods Carbohydrate Chemistry**, v. 6, p. 20-24, 1972.

SMOUT, C.; SILA, D. N.; VU, T. S.; VAN LOEY, A. M. L. HENDRICKX, M. E. G. Effect of preheating and calcium pre-treatment on pectin structure and thermal texture degradation: a case study on carrots. **Journal of Food Engineering**, v. 67, p. 419-425, 2005.

SOARES, L. M. V. Como obter resultados confiáveis em cromatografia. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**. v. 60, n. 1, p. 79-84, 2001.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica Sistemática**. Nova Odessa: São Paulo: Instituto Plantarum, 2005. 640 p.

SRIAMORNSAK, P. Chemistry of Pectin and Its Pharmaceutical Uses: A Review. **Silpakorn University International Journal**. v. 3, p. 206-228, 2003.

STREETER, V. L.; WYLIE, E. B. **Mecânica dos Fluidos**. 7 ed. São Paulo: McGraw-Hill do Brasil, 1982. 585 p.

SYNYTSYA, A.; COPÍKOVÁ, J. C.; MATEJKA, P.; MACHOVIC, V. Fourier transform Raman and infrared spectroscopy of pectins. **Carbohydrate Polymers**. v. 54, p. 97–106, 2003.

TAMAKI, Y.; KONISHI, T.; FUKUTA, M.; TAKO, M. Isolation and structural characterization of pectin from endocarp of *Citrus depressa*. **Food Chemistry**, v. 107, p. 352 –361, 2008.

TEIXEIRA, S. T. **Mercado exportador - análise para cultura do maracujá**. Toda Fruta. 2005. Disponível em: <http://www.todafruta.com.br/todafruta/mostra_conteudo.asp?conteudo=8543>. Acesso em 07/02/2010.

THAKUR, B. R.; SINGH, R. K.; HANDA, A. K. Chemistry and uses of pectin- a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 37, n. 01, p. 47-73, 1997.

THIBAUT, J. F.; PETIT, R. Les substances pectiques: généralités et domaine d'application dans les industries alimentaires. **Industries alimentaires et agricoles**. v. 96, n. 12, dez. 1979.

THIBAUT, J. F. Les substances pectiques. In: MONTIES B. **Les polymères végétaux**. Paris: Gauthier-Villars, p. 233-251, 1980.

THIBAUT, J. F., SAULNIER, L., AXELOS, M. A. V; RENARD, C. M. G. C. Difficultés expérimentales de l'étude des macromolécules pectiques. **Bulletin de la Société Botanique Française**, n. 314, p. 319-337, 1991.

THOMAS, M.; GULLEMIN, F.; GUILLON, F.; THIBAUT, J-F. Pectins in the fruits of Japanese quince (*Chaenomeles japonica*). **Carbohydrate polymers**, v. 53, p. 361-372, 2003.

TROMBETTA, G.; DI BONA, C.; GRAZI, E. The transition of polymers into a network of polymers alters per se the water activity. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 35, n. 1-2, p. 15-18, mar. 2005.

TIMOFIECSYK F.R., PAWLOWSKY U. Minimização de Resíduos na Indústria de Alimentos. **Boletim do CEPPA**, Curitiba, v. 18, n. 2, p. 221-236, jul./dez. 2000.

UCHOA, A. M. A.; DA COSTA, J.M.C.; MAIA, G. A.; SILVA, E. M. C.; CARVALHO, A. F. F. U.; MEIRA, T. R. Parâmetros Físico-Químicos, Teor de Fibra Bruta e Alimentar de Pós Alimentícios Obtidos de Resíduos de Frutas Tropicais. **Segurança Alimentar e Nutricional**, Campinas, v. 15, n. 2, p. 58-65, 2008.

VASCONCELLOS, M.A.S.; SAVAZAKI, E.T.; GRASSI FILHO, H.; BUSQUET, R.N.B.; MOSCA, J.L. Caracterização física e quantidade de nutrientes em frutos de maracujá doce. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 23, n. 3, p. 690-694, dez. 2001.

VINCKEN, J.-P., SCHOLS, H. A.; OOMEN, R. J. F. J.; MCCANN, M. C.; ULVSKOV, P., VORAGEN, A. G. J.; VISSER, R. G. S. If homogalacturonan were a side chain of rhamnogalacturonan I. Implications for cell wall architecture. **Plant Physiology**, v. 132, p. 1781-1789, ago. 2003.

VORAGEN, G. J., PILNIK, W., THIBAUT, J. F., AXELOS, M. A. V., RENARD, C. M. G. C. In: **Food polysaccharides and their applications** (SEPHEN A. M., ed.), p 287–339. Marcel Dekker Inc., New York, 1995.

VORAGEN, A. G. J.; COENEN, G.- J.; VERHOEF, R. P.; SCHOLS, H. A. Pectin, a versatile polysaccharide present in plant cell walls. **Structural Chemistry**, v. 20, p. 263–275, 2009.

WANG, S., CHEN, F., WU, J., WANG, Z., LIAO, X., HU, X. Optimization of pectin extraction assisted by microwave from apple pomace using response surface methodology. **Journal of Food Engineering**, v. 78, n. 2, p. 693-700, 2007.

WESTERENG, B.; MICHAELSEN, T.E., SAMUELSEN, A. B.; KNUTSEN, S. H. Effects of extraction conditions on the chemical structure and biological activity of white cabbage pectin. **Carbohydrate Polymers**, v. 72, p. 32 –42, 2008.

WILLATS, W.G.T, KNOX, J.P.; MIKKELSEN, J. D. Pectin: new insights into an old polymer are starting to gel. **Trends in Food Science & Technology**, v. 17, p. 97-104, 2006.

WONG, D. W. S. **Química de los Alimentos: mecanismos y teoria**. Zaragoza: Acribia, 1995. 476 p.

WOSIACKI, G.; NOGUEIRA, A. Suco de maçã. In: VENTURINI FILHO, W. G. **Tecnologia de bebidas: matéria-prima, processamento, BPF/APPCC, legislação e mercado**. São Paulo: Edgard Blücher, p. 255-291, 2005.

YALPANI, M.; SANDFORD, P. A. Commercial Polysaccharydes: recent trends and developments. In: YALPANI, M. **Industrial Polysaccharides. Genetic Engineering, Structure/Property Relations and Applications**. Amsterdam: Elsevier, 1987.

YAPO, B. M.; KOFFI, K. L. Yellow passion fruit rind- a potencial source of low-methoxyl pectin. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 2738-2744, 2006.

YAPO, B.M.; ROBERT, C.; ETIENNE, I.; WATHELET, B.; PAQUOT, M. Effect of extraction conditions on the yield, purity and surface properties of sugar beet pulp pectin extracts **Food Chemistry**, v. 100, p. 1356 –1364, 2007a.

YAPO B. M.; LEROUGE P.; THIBAUT, J.-F.; RALET, M.-C. Pectins from citrus peel cell walls contain homogalacturonans homogenous with respect to molar mass, rhamnogalacturonan I and rhamnogalacturonan II. **Carbohydrate Polymers**, v. 69, p. 426 – 435, 2007b.

YAPO, B. M., KOFFI, K. L. Dietary fiber components in yellow passion fruit rind as a potential fiber source. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 14, p. 5880-5883, 2008a.

YAPO, B. M.; KOFFI, K. L. The polysaccharide composition of yellow passion fruit rind cell wall: chemical and macromolecular features of extracted pectins and hemicellulosic polysaccharides. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 88, n. 12, p. 2125-2133, 2008b.

YAPO, B. M. Biochemical characteristics and gelling capacity of pectin from yellow passion fruit rind as affected by acid extractant nature. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, p. 1572–1578, jan. 2009a.

YAPO, B. M. Lemon juice improves the extractability and quality characteristics of pectin from yellow passion fruit by-product as compared with commercial citric acid extractant. **Bioresource Technology**, v. 100, p. 3147 –3151, 2009b.

YAPO, B. M. Pectin quantity, composition and physicochemical behaviour as influenced by the purification process. **Food Research International**, n. 42, p. 1197 –1202, 2009c.

YULIARTI, O.; GOH, K.; MATIA-MERINO, L.; MAWSON, J.; DRUMMOND, L.; BRENNAN, C. S. Effect of extraction techniques and conditions on the physicochemical properties of the water soluble polysaccharides from gold kiwifruit (*Actinidia chinensis*). **International Journal of Food Science and Technology**, v. 43, p. 2268 –2277, 2008.

ZANATTA, S. C. Casca de maracujá. Fruteza Sucos Naturais Ltda. Correspondência eletrônica recebida em 05 dez. 2008.

ANEXO 1

ANEXO II da Resolução do CONAMA n.º 313, de 29 de outubro de 2002, que dispõe sobre o Inventário Nacional de Resíduos Sólidos Industriais.

RESÍDUOS SÓLIDOS INDUSTRIAIS

| CÓDIGO RESÍDUO | DO | DESCRIÇÃO DO RESÍDUO |
|-------------------|----|---|
| | | CLASSE II OU CLASSE III |
| A001 | | Resíduos de restaurante (restos de alimentos) |
| A002 | | Resíduos gerados fora do processo industrial (escritório, embalagens, etc.) |
| A003 | | Resíduos de varrição de fábrica |
| A004 | | Sucata de metais ferrosos |
| A104 | | Embalagens metálicas (latas vazias) |
| A204 | | Tambores metálicos |
| A005 | | Sucata de metais não ferrosos (latão, etc.) |
| A105 | | Embalagens de metais não ferrosos (latas vazias) |
| A006 | | Resíduos de papel e papelão |
| A007 | | Resíduos de plásticos polimerizados de processo |
| A107 | | Bombonas de plástico não contaminadas |
| A207 | | Filmes e pequenas embalagens de plástico |
| A008 | | Resíduos de borracha |
| A108 | | Resíduos de acetato de etil vinila (EVA) |
| A208 | | Resíduos de poliuretano (PU) |
| A308 | | Espumas |
| A009 | | Resíduos de madeira contendo substâncias não tóxicas |
| A010 | | Resíduos de materiais têxteis |
| A011 | | Resíduos de minerais não metálicos |
| A111 | | Cinzas de caldeira |
| A012 | | Escória de fundição de alumínio |
| A013 | | Escória de produção de ferro e aço |
| A014 | | Escória de fundição de latão |
| A015 | | Escória de fundição de zinco |
| A016 | | Areia de fundição |
| A017 | | Resíduos de refratários e materiais cerâmicos |
| A117 | | Resíduos de vidros |
| A018 | | Resíduos sólidos compostos de metais não tóxicos |
| A019 | | Resíduos sólidos de estações de tratamento de efluentes contendo material biológico não tóxico |
| A021 | | Resíduos sólidos de estações de tratamento de efluentes contendo substâncias não tóxicas |
| A022 | | Resíduos pastosos de estações de tratamento de efluentes contendo substâncias não tóxicas |
| A023 | | Resíduos pastosos contendo calcário |
| A024 | | Bagaço de cana |
| A025 | | Fibra de vidro |
| A099 | | Outros resíduos não perigosos |
| A199 | | Aparas salgadas |
| A299 | | Aparas de peles caleadas |
| A399 | | Aparas, retalhos de couro atinado |
| A499 | | Carnaça |
| A599 | | Resíduos orgânico de processo (sebo, soro, ossos, sangue, outros da indústria alimentícia, etc) |
| A699 | | Casca de arroz |

| | |
|------|--|
| A799 | Serragem, farelo e pó de couro atado |
| A899 | Lodo do caleiro |
| A999 | Resíduos de frutas (bagaço, mosto, casca, etc.) |
| A026 | Escória de jateamento contendo substâncias não tóxicas |
| A027 | Catalisadores usados contendo substâncias não tóxicas |
| A028 | Resíduos de sistema de controle de emissão gasosa contendo substância não tóxicas (precipitadores, filtros de manga, entre outros) |
| A029 | Produtos fora da especificação ou fora do prazo de validade contendo substâncias não perigosas |

Observações:

1. Esses códigos só devem ser utilizados se o resíduo não for previamente classificado como perigoso. Ex. resíduo de varrição de unidade de embalagem de Parathion deve ser codificado como D099 ou P089 e não como A003.
2. Embalagens vazias contaminadas com substâncias das Listagens nos 5 e 6, da NBR 10004, são classificadas como resíduos perigosos.

ANEXO 2

Ministério da Saúde

Legislação em
Vigilância Sanitária**RESOLUÇÃO DE DIRETORIA COLEGIADA - RDC Nº 263, DE 22 DE SETEMBRO DE 2005.**

A Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, no uso da atribuição que lhe confere o art. 11 inciso IV do Regulamento da ANVISA aprovado pelo Decreto 3.029, de 16 de abril de 1999, c/c do Art. 111, inciso I, alínea "b" § 1º do Regimento Interno aprovado pela Portaria nº 593, de 25 de agosto de 2000, republicada no DOU de 22 de dezembro de 2000, em reunião realizada em 29, de agosto de 2005, considerando a necessidade de constante aperfeiçoamento das ações de controle sanitário na área de alimentos, visando a proteção à saúde da população;

considerando a necessidade de atualização da legislação sanitária de alimentos, com base no enfoque da avaliação de risco e da prevenção do dano à saúde da população;

considerando que os regulamentos técnicos da ANVISA de padrões de identidade e qualidade de alimentos devem priorizar os parâmetros sanitários;

considerando que o foco da ação de vigilância sanitária é a inspeção do processo de produção visando a qualidade do produto final;

adota a seguinte Resolução de Diretoria Colegiada e eu, Diretor-Presidente, determino a sua publicação:

Art. 1º Aprovar o "REGULAMENTO TÉCNICO PARA PRODUTOS DE CEREAIS, AMIDOS, FARINHAS E FARELOS", constante do Anexo desta Resolução.

Art. 2º As empresas têm o prazo de 01 (um) ano a contar da data da publicação deste Regulamento para adequarem seus produtos.

cumprimento aos termos desta Resolução constitui infração sanitária sujeitando os infratores às penalidades previstas na Lei nº. de agosto de 1977 e demais disposições aplicáveis.

Art. 4º Revogam-se as disposições em contrário, em especial, a Resolução CNNPA nº. 12/78, itens referentes a Biscoitos e Bolachas, Cereais e Derivados, Amidos e Féculas, Malte e Derivados, Farinhas; Portaria SVS/MS nº. 354/96; Portaria SVS/MS nº. 132/99; Resolução ANVISA/MS RDC nº. 53/00; Resolução ANVISA/MS RDC nº. 90/00 e Resolução ANVISA/MS RDC nº. 93/00.

Art. 5º Esta Resolução entra em vigor na data de sua publicação.

DIRCEU RAPOSO DE MELLO

ANEXO

REGULAMENTO TÉCNICO PARA PRODUTOS DE CEREAIS, AMIDOS, FARINHAS E FARELOS

1. ALCANCE

Fixar a identidade e as características mínimas de qualidade a que devem obedecer os Produtos de Cereais, Amidos, Farinhas e Farelos. Exclui-se deste Regulamento a Farinha Desengordurada de Soja.

2. DEFINIÇÃO

2.1. Produtos de Cereais: são os produtos obtidos a partir de partes comestíveis de cereais, podendo ser submetidos a processos de maceração, moagem, extração, tratamento térmico e ou outros processos tecnológicos considerados seguros para produção de alimentos.

2.1.1. Massas Alimentícias: são os produtos obtidos da farinha de trigo (*Triticum aestivum* L. e ou de outras espécies do gênero *Triticum*) e ou derivados de trigo durum (*Triticum durum* L.) e ou derivados de outros cereais, leguminosas, raízes e ou tubérculos, resultantes do processo de empasto e amassamento mecânico, sem fermentação.

2.1.1.1. As Massas Alimentícias podem ser adicionadas de outros ingredientes, acompanhadas de complementos isolados ou misturados à massa, desde que não descaracterizem o produto. Os produtos podem ser apresentados secos, frescos, pré-cozidos, instantâneos ou prontos para o consumo, em diferentes formatos e recheios.

2.1.2. Pães: são os produtos obtidos da farinha de trigo e ou outras farinhas, adicionados de líquido, resultantes do processo de fermentação ou não e cocção, podendo conter outros ingredientes, desde que não descaracterizem os produtos. Podem apresentar cobertura, recheio, formato e textura diversos.

2.1.3. Biscoitos ou Bolachas: são os produtos obtidos pela mistura de farinha(s), amido(s) e ou fécula(s) com outros ingredientes, submetidos a processos de amassamento e cocção, fermentados ou não. Podem apresentar cobertura, recheio, formato e textura diversos.

2.1.4. Cereais processados: são os produtos obtidos a partir de cereais laminados, cilindrados, rolados, inflados, flocados, extrudados, pré-cozidos e ou por outros processos tecnológicos considerados seguros para produção de alimentos, podendo conter outros ingredientes desde que não descaracterizem os produtos. Podem apresentar cobertura, formato e textura diversos.

2.2. Farinhas: são os produtos obtidos de partes comestíveis de uma ou mais espécies de cereais, leguminosas, frutos, sementes, tubérculos e rizomas por moagem e ou outros processos tecnológicos considerados seguros para produção de alimentos.

2.3. Amidos: são os produtos amiláceos extraídos de partes comestíveis de cereais, tubérculos, raízes ou rizomas.

2.4. Farelos: são os produtos resultantes do processamento de grãos de cereais e ou leguminosas, constituídos principalmente de casca e ou gérmen, podendo conter partes do endosperma.

3. DESIGNAÇÃO

Os produtos podem ser designados conforme o item 2.1.1; 2.1.2; 2.1.3; 2.2; 2.3 e 2.4 ou por denominações consagradas pelo uso, podendo ser de expressões relativas ao ingrediente que caracteriza o produto, processo de obtenção, forma de apresentação, finalidade de uso e ou característica específica.

3.1. A massa alimentícia, quando obtida, exclusivamente, de farinha de trigo (gênero *Triticum*) pode ser designada de "Macarrão".

3.1.1. A massa alimentícia, quando obtida, exclusivamente, de derivados de farinha de trigo durum (*Triticum durum* L.), pode utilizar a expressão "de trigo durum" na designação.

3.1.2. A massa alimentícia, quando obtida a partir da substituição parcial da farinha de trigo deve ser acrescentada à designação a expressão "mista".

3.2. A designação das farinhas, amidos, féculas e farelos deve ser seguida do(s) nome(s) comum(ns) da(s) espécie(s) vegetal(is) utilizada(s).

3.2.1. Os amidos extraídos de tubérculos, raízes e rizomas podem ser designados de fécula.

3.3. A mistura de farelos deve ser designada de "Mistura de Farelos", seguida dos nomes comuns das espécies vegetais utilizadas.

3.4. A mistura de farelo(s) com outro(s) ingrediente(s) deve ser designada de "Mistura à Base de Farelo(s)".

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

4.1. BRASIL. Decreto nº. 55.871, de 26 de março de 1965. Modifica o Decreto nº 50.040, de 24 de janeiro de 1961, referente a normas reguladoras do emprego de aditivos para alimentos, alterado pelo Decreto nº 691, de 13 de março de 1962. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 09 abr. 1965. Seção 1.

4.2. BRASIL. Decreto - Lei nº. 986, de 21 de outubro de 1969. Institui normas básicas sobre alimentos. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 21 out. 1969. Seção 1.

4.3. BRASIL. Resolução nº 4, de 24 de novembro de 1988. Aprova revisão das Tabelas I, III, IV e V referente a Aditivos Intencionais, bem como os anexos I, II, III e VII, todos do Decreto nº 55.871, de 26 de março de 1965. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 19 dez. 1988. Seção 1.

4.4. BRASIL. Portaria Interministerial nº 224 - MS/MA, de 05 de abril de 1989. Permite o uso de derivados de cereais, leguminosas e tubérculos destinados ao consumo humano, em substituição parcial ou total à farinha de trigo. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 07 abr. 1989. Seção 1.

4.5. BRASIL. Lei nº. 8.078, de 11 de setembro de 1990. Código de Defesa do Consumidor. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 12 set. 1990. Suplemento.

4.6. BRASIL. Portaria SVS/MS nº. 1428, de 26 de novembro de 1993. Regulamento Técnico para Inspeção Sanitária de Alimentos. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 02 dez. 1993. Seção 1.

4.7. BRASIL. Portaria SVS/MS nº. 326, de 30 de julho de 1997. Regulamento Técnico sobre as Condições Higiênico-sanitárias e de Boas Práticas de Fabricação para Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Alimentos. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 01 ago. 1997. Seção 1.

4.8. BRASIL. Portaria nº 540, de 27 de outubro de 1997. Regulamento Técnico: Aditivos Alimentares - definições, classificação e emprego. Diário Oficial União, Brasília, DF, 28 out. 1997. Seção 1.

4.9. BRASIL. Portaria SVS/MS nº. 27, de 13 de janeiro de 1998. Regulamento Técnico Referente à Informação Nutricional Complementar. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 16 jan. 1998. Seção 1.

- 4.10. BRASIL. Portaria SVS/MS nº. 29, de 13 de janeiro de 1998. Regulamento Técnico referente a Alimentos para Fins Especiais. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 15 jan. 1998. Seção 1.
- 4.11. BRASIL. Portaria SVS/MS nº. 685, de 27 de agosto de 1998. Regulamento Técnico de Princípios Gerais para o Estabelecimento de Níveis Máximos de Contaminantes Químicos em Alimentos e seu Anexo: Limites máximos de tolerância para contaminantes inorgânicos. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 28 ago. 1998. Seção 1.
- 4.12. BRASIL. Resolução ANVS/MS nº. 16, de 30 de abril de 1999. Regulamento Técnico de Procedimento para Registro de alimentos e ou novos ingredientes. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 03 mai. 1999. Seção 1.
- 4.13. BRASIL. Resolução ANVS/MS nº. 17, de 30 de abril de 1999. Regulamento Técnico que estabelece as Diretrizes Básicas para a Avaliação de Risco e Segurança dos Alimentos. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 03 mai. 2004. Seção 1.
- 4.14. BRASIL. Resolução ANVS/MS nº. 383, de 05 de agosto de 1999. Regulamento técnico que aprova o uso de Aditivos Alimentares, estabelecendo suas Funções e seus Limites Máximos para a Categoria de Alimentos 7 - Produtos de Panificação e Biscoitos. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 09 ago. 1999. Seção 1.
- 4.15. BRASIL. Resolução ANVS/MS nº 385, de 05 de agosto de 1999. Regulamento técnico que aprova o uso de Aditivos Alimentares, estabelecendo suas Funções e seus Limites Máximos para a Categoria de Alimentos 6 - Cereais e Produtos de ou a Base de Cereais. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 09 ago. 1999. Seção 1.
- 4.16. BRASIL. Resolução ANVS/MS nº. 386 de 05 de agosto de 1999. Regulamento Técnico que aprova o uso de Aditivos Alimentares segundo as Boas Práticas de Fabricação e suas funções. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 09 ago. 1999. Seção 1.
- 4.17. BRASIL. Resolução ANVS/MS nº. 22, de 15 de março de 2000. Procedimentos de Registro e Dispensa da Obrigatoriedade de Registro de Produtos Importados Pertinentes à Área de Alimentos. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 16 mar. 2000. Seção 1.
- 4.18. BRASIL. Resolução ANVS/MS nº. 23, de 15 de março de 2000. Manual de Procedimentos Básicos para Registro e Dispensa da Obrigatoriedade de Registro de Produtos Pertinentes à Área de Alimentos. Diário Oficial da União, Brasília, 16 mar. 2000. Seção 1.
- 4.19. BRASIL. Resolução RDC ANVISA/MS nº. 12, de 02 de janeiro de 2001. Regulamento Técnico sobre os Padrões Microbiológicos para Alimentos. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 10 jan. 2001. Seção 1.
- 4.20. BRASIL. Resolução RDC ANVISA/MS nº. 234, de 19 de agosto de 2002. Regulamento Técnico sobre aditivos utilizados segundo as Boas Práticas de Fabricação e suas Funções. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 21 ago. 2002. Seção 1.
- 4.21. BRASIL. Resolução RDC ANVISA/MS nº. 259, de 20 de setembro de 2002. Regulamento Técnico para Rotulagem de Alimentos Embalados. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 23 set. 2002. Seção 1.
- 4.22. BRASIL. Resolução RDC ANVISA/MS nº. 275, de 21 de outubro de 2002. Regulamento Técnico de Procedimentos Operacionais Padronizados aplicados aos Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Alimentos e a Lista de Verificação das Boas Práticas de Fabricação em Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Alimentos. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 06 nov. 2002. Seção 1.
- 4.23. BRASIL. Lei nº 10.674, de 16 de maio de 2003. Obriga a que os produtos alimentícios comercializados informem sobre a presença de glúten, como medida preventiva e de controle da doença celíaca. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 19 mai. 2003. Seção 1.
- 4.24. BRASIL. Resolução RDC ANVISA/MS nº. 175, de 08 de julho de 2003. Regulamento Técnico de Avaliação de Matérias Macroscópicas e Microscópicas Prejudiciais à Saúde Humana em Alimentos Embalados. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 09 jul. 2003. Seção 1.
- 4.25. BRASIL. Resolução RDC ANVISA/MS nº. 359, de 23 de dezembro de 2003. Regulamento Técnico de Porções de Alimentos Embalados para Fins de Rotulagem Nutricional. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 26 dez. 2003. Seção 1.
- 4.26. BRASIL. Resolução RDC ANVISA/MS nº. 360, de 23 de dezembro de 2003. Regulamento Técnico sobre Rotulagem Nutricional de Alimentos Embalados. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 26 dez. 2003. Seção 1.
- 4.27. BRASIL. Instrução Normativa MAPA nº 8, de 3 de junho de 2005. Regulamento Técnico de Identidade e Qualidade da Farinha de Trigo. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 03 jun. 2005. Seção 1.
- 4.28. INSTITUTE OF MEDICINE OF THE NATIONAL ACADEMIES. Food and Nutrition Board. FOOD CHEMICALS CODEX. 5th ed. National Academy of Sciences, Washington D.C., 2004. xxxiv + 998p.

5. REQUISITOS ESPECÍFICOS

- Farinhas, amido de cereais e farelos: umidade máxima 15,0 % (g /100 g)
- Amido ou fécula de batata: umidade máxima 21,0 % (g/100g)
- Amido ou fécula de mandioca: umidade máxima 18,0 % (g/100g)

6. REQUISITOS GERAIS

6.1. Os produtos devem ser obtidos, processados, embalados, armazenados, transportados e conservados em condições que não produzam, desenvolvam e ou agreguem substâncias físicas, químicas ou biológicas que coloquem em risco a saúde do consumidor. Deve ser obedecida a legislação vigente de Boas Práticas de Fabricação.

6.2. Os Produtos devem atender aos Regulamentos Técnicos específicos de Aditivos Alimentares e Coadjuvantes de Tecnologia de Fabricação; Contaminantes; Características Macroscópicas, Microscópicas e Microbiológicas; Rotulagem de Alimentos Embalados; Rotulagem Nutricional de Alimentos Embalados; Informação Nutricional Complementar, quando houver e outras legislações pertinentes.

6.3. A utilização de espécie vegetal, parte de vegetal ou de produto que não são usados tradicionalmente como alimento, pode ser autorizada desde que seja comprovada a segurança de uso, em atendimento ao Regulamento Técnico específico.

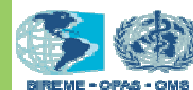
7. REQUISITOS ADICIONAIS DE ROTULAGEM

7.1. Misturas à Base de Farelos:

- a) deve constar, obrigatoriamente, a seguinte advertência, em destaque e em negrito: "O Ministério da Saúde adverte: não existem evidências científicas de que este produto previna, trate ou cure doenças"; e
- b) é vedada a indicação do produto para suprir deficiências nutricionais.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária - SEPN 515, Bl.B, Ed.Ômega - Brasília (DF) CEP 70770-502 - Tel: (61) 3448
Disque Saúde: 0 800 61 1997

ANEXO 3

 Ministério da Saúde
Legislação em
Vigilância Sanitária**RESOLUÇÃO DE DIRETORIA COLEGIADA - RDC Nº. 278, DE 22 DE SETEMBRO DE 2005.**

A Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, no uso da atribuição que lhe confere o art. 11 inciso IV do Regulamento da ANVISA aprovado pelo Decreto 3.029, de 16 de abril de 1999, c/c do Art. 111, inciso I, alínea "b" § 1º do Regimento Interno aprovado pela Portaria nº. 593, de 25 de agosto de 2000, republicada no DOU de 22 de dezembro de 2000, em reunião realizada em 29, de agosto de 2005,

considerando a necessidade de constante aperfeiçoamento das ações de controle sanitário na área de alimentos, visando a proteção à saúde da população;

considerando a atualização dos padrões de identidade e qualidade de alimentos;

considerando os itens 4.2 e 4.3 da Resolução ANVS/MS nº. 23/00 - Regulamento Técnico sobre o Manual de Procedimentos Básicos para Registro e Dispensa da Obrigatoriedade de Registro de Produtos Pertinentes à Área de Alimentos que estabelecem: "Os produtos do Anexo I estão dispensados da obrigatoriedade de registro, enquanto que os produtos do Anexo II devem ser registrados..."; e "Os produtos de um anexo podem passar a integrar o outro anexo...";

adota a seguinte Resolução de Diretoria Colegiada e eu, Diretor-Presidente, determino a sua publicação:

Art. 1º Aprovar as categorias de Alimentos e Embalagens Dispensados e com Obrigatoriedade de Registro, conforme Anexos I e II desta Resolução.

Art. 2º O descumprimento aos termos desta Resolução constitui infração sanitária sujeitando os infratores às penalidades previstas na Lei nº. 6.437, de 20 de agosto de 1977 e demais disposições aplicáveis.

Art. 3º Revogam-se as disposições em contrário, em especial, a Resolução CNNPA nº. 01/68; Resolução CNNPA nº. 18/68; Resolução CNNPA nº. 24/76, item 1; e os Anexos I e II da Resolução ANVS/MS nº. 23/00.

Art. 4º Esta Resolução de Diretoria Colegiada entra em vigor na data de sua publicação.

ANEXO I

ALIMENTOS E EMBALAGEM DISPENSADOS DA OBRIGATORIEDADE DE REGISTRO

| CÓDIGO | CATEGORIA |
|---------|---|
| 4100115 | AÇÚCARES E PRODUTOS PARA ADOÇAR (1) |
| 4100191 | ADITIVOS AROMATIZANTES/AROMAS |
| 4200039 | ALIMENTOS ADICIONADOS DE NUTRIENTES ESSENCIAIS |
| 4200038 | ALIMENTOS E BEBIDAS COM INFORMAÇÃO NUTRICIONAL COMPLEMENTAR |
| 4300167 | BALAS, BOMBONS E GOMAS DE MASCAR |
| 4100018 | CAFÉ, CEVADA, CHÁ, ERVA-MATE E PRODUTOS SOLÚVEIS |
| 4100166 | CHOCOLATE E PRODUTOS DE CACAU |
| 4200071 | EMBALAGEM |
| 4300194 | ENZIMAS E PREPARAÇÕES ENZIMÁTICAS (2) |
| 4100042 | ESPECIARIAS, TEMPEROS E MOLHOS |
| 4200012 | GELADOS COMESTÍVEIS E PREPARADOS PARA GELADOS COMESTÍVEIS |
| 4200123 | GELO |
| 4200098 | MISTURAS PARA O PREPARO DE ALIMENTOS E ALIMENTOS PRONTOS PARA O CONSUMO |

| | |
|---------|---|
| 4100158 | ÓLEOS VEGETAIS, GORDURAS VEGETAIS E CREME VEGETAL |
| 4300151 | PRODUTOS DE CEREAIS, AMIDOS, FARINHAS E FARELOS |
| 4300196 | PRODUTOS PROTEICOS DE ORIGEM VEGETAL |
| 4100077 | PRODUTOS DE VEGETAIS (EXCETO PALMITO), PRODUTOS DE FRUTAS E COGUMELOS COMESTÍVEIS (3) |

Observações:

- (1) Adoçante de Mesa - desde que os edulcorantes e veículos estejam previstos em Regulamentos Técnicos específicos;
- (2) Enzimas e preparações enzimáticas - desde que previstas em Regulamentos Técnicos específicos, inclusive suas fontes de obtenção e atendam as especificações estabelecidas nestes regulamentos.
- (3) Cogumelos Comestíveis - nas formas de apresentação: inteiras, fragmentadas, moídas e em conserva;

ANEXO II

ALIMENTOS E EMBALAGENS COM OBRIGATORIEDADE DE REGISTRO

| CÓDIGO | CATEGORIA |
|---------|---|
| 4200047 | ADITIVOS |
| 4100114 | ADOÇANTE DIETÉTICO |
| 4300164 | ÁGUAS ADICIONADAS DE SAIS |
| 4200020 | ÁGUA MINERAL NATURAL E AGUA NATURAL |
| 4300032 | ALIMENTOS COM ALEGAÇÕES DE PROPRIEDADES FUNCIONAL E OU DE SAÚDE |
| 4300033 | ALIMENTOS INFANTIS |
| 4300083 | ALIMENTOS PARA CONTROLE DE PESO |
| 4300078 | ALIMENTOS PARA DIETAS COM RESTRIÇÃO DE NUTRIENTES |
| 4300086 | ALIMENTOS PARA DIETAS COM INGESTÃO CONTROLADA DE AÇÚCARES |
| 4200081 | ALIMENTOS PARA NUTRIÇÃO ENTERAL |
| 4300088 | ALIMENTOS PARA GESTANTES E NUTRIZES |
| 4300087 | ALIMENTOS PARA IDOSOS |
| 4300085 | ALIMENTOS PARA PRATICANTES DE ATIVIDADE FÍSICA |
| 4200055 | COADJUVANTES DE TECNOLOGIA |
| 4300031 | EMBALAGENS NOVAS TECNOLOGIAS (RECICLADAS) |
| 4300030 | NOVOS ALIMENTOS E OU NOVOS INGREDIENTES |
| 4100204 | SAL |
| 4200101 | SAL HIPOSSÓDICO / SUCEDÂNEOS DO SAL |
| 4300090 | SUBSTÂNCIAS BIOATIVAS E PROBIÓTICOS ISOLADOS COM ALEGAÇÃO DE PROPRIEDADES FUNCIONAL E OU DE SAÚDE |
| 4300041 | SUPLEMENTO VITAMÍNICO E OU MINERAL |
| 4000009 | VEGETAIS EM CONSERVA (PALMITO) |

ANEXO 4
CORRESPONDÊNCIA ELETRÔNICA RECEBIDA COM RESULTADOS DAS
ANÁLISES REALIZADAS PELA HERBSTREITH & FOX (13 out. 2008)

Dear Prof. Canteri,

Thank you very much for sending the two pectins of rinds passion fruit. With great interest we have analysed the two samples and have found the following results:

| Analysis | FMAC | FMPC |
|--|---------------------------|---------------------------|
| Degree of esterification [%] | 80,2 | 74,0 |
| Galacturonic acid content [%] | 78,0 | 81,4 |
| Methyl ester content [%] | 10,0 | 9,6 |
| pH (2,5%) | 4,96 | 2,56 |
| Ash [%] | 6,3 | 1,3 |
| Moisture [%] | 6,7 | 8,3 |
| Starch [%] | n.n. | n.n. |
| Colour | L* 80,01 b* 1,21 a* 18,05 | L* 66,61 a* 2,99 b* 18,13 |
| Turbidity [FNU] | 200 | 254 |
| Gel Strength [°USA-SAG] | 156 | 199 |
| Breaking Strength [HPU] | 360 (pre-gelation) | 757 |
| Viscosity (2,5 %) [mPas] - D = 100 s-1 - D = 250 s-1 | 576 412 | 1111 726 |

From analytical side, both pectins are very good . The degree of esterification is high and the galacturonic acid content is higher than 65 %, which is necessary for pectins.

But as the pectins have a wooly structure it is difficult to grind them evenly. The pectins show a poor solubility which probably causes the high turbidity of the samples. Also gelling strength and viscosity are under evaluated if not all pectin goes into solution.

As we do not know your production steps for the pectin it is difficult to give an advice for improvement.

Do you have also own results of the pectin samples? What is the target of the maracuja pectin project?

Best regards,

Hans-Ulrich Endress

APÊNDICE 1

Protocolo de extração ácida de pectina

Condições brandas

Razão 1:50, ácido nítrico 50 mM, 80 °C, 25 min-extração com menor rendimento, mas menor degradação da cadeia de pectina

Condições severas

Razão 1:50, ácido nítrico 100 mM, 97 °C, 10 min- extração com maior rendimento, mas degradação da cadeia de pectina

Para pectina solúvel: iniciar no passo 7.

1. Preparar suspensão de 4 g de farinha de matéria-prima, tamisada em peneira de 60 Mesh, com umidade pré-determinada, em 100 mL de água. Deixar hidratar durante 10 minutos, homogeneizando bem.
2. Levar à ebulição 100 mL de solução de HNO₃ para que o volume final (200 mL, neste caso) tenha 50 mM (fazer o cálculo do volume de solução segundo quadro didático ao final deste anexo*)
3. Quando o conteúdo de cada frasco alcançar a temperatura de extração, misturar cuidadosamente a solução ácida com a suspensão

Obs: preparar uma amostra a frio para determinar o pH inicial do sistema e determinar o pH aproximado com fita antes do isolamento da pectina

4. Levar o sistema sobre chapa aquecedora com agitador magnético. Fechar o sistema, marcar cuidadosamente o tempo e controlar rigorosamente a temperatura.

Obs: Deixar um recipiente com água e gelo próximo. Caso a temperatura se eleve acima do valor estabelecido, retirar rapidamente e resfriar. Caso a temperatura abaixe ou se eleve mais que 2 °C do valor estabelecido no experimento por tempo superior a um minuto, desconsiderar a amostra. **Muito cuidado!**

5. Atingido o tempo de extração, resfriar rapidamente o frasco e conduzir a banho de gelo e água.
6. Filtrar em tecido sintético (morim, poliéster, tergal, entre outros)
7. Resfriar até 4 °C.
8. Precipitar a pectina do extrato ácido, por adição sobre dois volumes de etanol (entre 88 e 96° GL) resfriado a 4 °C.
9. Deixar em repouso 30 minutos
10. Filtrar o gel obtido em tecido sintético e prensar levemente
11. Deixar em saquinhos de tecido sintético *overnight* em solução de etanol 70% sob agitação para eliminação do ácido extrator

Obs: Identificar os saquinhos com papéis escritos a lápis

12. Prensar manualmente e lavar com etanol 95% e posteriormente com acetona em graal

13. Secar em estufa de circulação de ar a 40 °C até que o material fique friável ou quebradiço
14. Armazenar em recipiente vedado para análises posteriores. Sugestão: potinhos de filme fotográfico.
15. Determinar a umidade de duas amostras

Resultados

Calcular o rendimento gravimétrico, levando em conta a massa e umidade da matéria-prima e da pectina obtida.

Cálculos importantes

Preparo de 1 litro de solução de ácido nítrico 1M

$d = 1,40 / 65,30\%$ de HNO_3 / mol = 63,016

$M = m / \text{mol} \cdot V(l)$

$1 = m / 63,016 \cdot 1$

$m = 63,01\text{g}$ de HNO_3

$d = m / v$

$1,40 = 63,01 \cdot V$

$V = 45,007\text{ mL}$ de HNO_3 65%

Ou seja **69,24 mL de HNO_3 65% q.s.p. 1000 mL de água deionizada**

34,62 mL de HNO_3 65% q.s.p. 500 mL de água deionizada

*Para calcular a molaridade em que estará a mistura (solução ácida + suspensão), utiliza-se o seguinte raciocínio ou o quadro didático abaixo

Divide-se 1000M pela concentração final para se saber a diluição e calcula-se para o volume final da mistura de extração

Exemplos:

Tenho 1000 mL de solução 1M (1000mM)

Quero 200 mL de solução 0,05M (50mM)

$1000 / 50 = 20$ Diluição 1:20 ou seja 10 mL de HNO_3 1M em 200 mL de volume final da mistura para concentração final de 50mM

Quero 200 mL de solução 8mM

$1000 / 8 = 125$ Diluição 1:125 ou seja 1,6 L em 200 mL de volume final da mistura

*Quadro didático para misturas (solução ácida + suspensão) com volume final de 200 mL

| Concentração | Volume de HNO_3 1M q.s.p. 100 mL |
|--------------|---|
| 8mM | 1,6 mL |
| 25 mM | 5 mL |
| 50 mM | 10 mL |
| 75 mM | 15 mL |
| 92 mM | 18,4 mL |